

Strukturanaloga des Antibiotikums Moenomycin A

Synthese eines ($\beta 1 \rightarrow 2$)-verknüpften Disaccharids
Anwendung des Phosphitester-Verfahrens zur
Herstellung von Aldose-1-Phosphaten

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
an der Fakultät für Chemie
der Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von

KARSTEN HOHGARDT
aus Wuppertal

Bochum 1987

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 1984 bis April 1987 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. P. Welzel an der Fakultät für Chemie der Ruhr-Universität Bochum angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. P. Welzel für die Überlassung des Themas, die intensive Betreuung und die ständige Bereitschaft zur Diskussion.

Herr Dipl. Ing. K. Hobert wies mich in den Gebrauch des HPLC-Gerätes ein und unterstützte mich hilfreich bei allen technischen Problemen. Ihm gilt an dieser Stelle mein Dank.

Herrn Prof. Dr. J. van Heijenoort danke ich für die Durchführung der in-vitro Tests.

Herrn Dr. D. Böttger, Hoechst AG, danke ich für die Überlassung von Flavomycin[®], und Herrn Prof. Dr. G. Seibert, Hoechst AG, danke ich für die Durchführung der in-vivo Tests.

Herrn Dr. D. Dietrich und seinen Mitarbeitern danke ich für die Anfertigung der NMR-Spektren. Herrn H. Kühne sei an dieser Stelle für die Erarbeitung der Parameter, die eine Messung der Phosphoglucolipide mit einem vernünftigen Zeitaufwand ermöglichen, gedankt.

Herrn Dr. D. Müller und seinen Mitarbeitern danke ich für die Aufnahme der Massenspektren. Mein Dank gilt insbesondere Herrn Dr. D. Müller für die Aufnahme und die Hilfe bei der Interpretation der FAB-Massenspektren und Herrn Dipl. Chem. D. Grzelak für die Aufnahme und die Hilfe bei der Interpretation der FIB-Massenspektren.

Allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich an dieser Stelle danken.

Meinen Eltern

Inhalt

Seite

1	Einführung	1
1.1	Allgemeines zum Antibiotikum Moenomycin A	1
1.2	Antimikrobielle Eigenschaften und Wirkung	3
1.2.1	Antimikrobielle Eigenschaften	3
1.2.2	Wirkung	4
1.3	Struktur-Wirkungsbeziehungen	5
1.4	Aufgabenstellung	9
2	Allgemeiner Teil	12
2.1	Synthesepplan	12
2.1.1	Retrosynthetische Betrachtungen	12
2.1.2	Methoden zur Glycosidsynthese	14
2.1.3	Phosphorylierungsmethoden	16
2.2	Herstellung geeignet funktionalisierter Monosaccharide	18
2.2.1	Herstellung von Glucosylakzeptoren	18
2.2.2	Herstellung von Glucosyldonatoren	27
2.3	Reaktionen zur Herstellung (81→2)-verknüpf- ter Disaccharide	33
2.3.1	Umsetzungen mit Trimethylsilyltrifluor- methansulfonat	33
2.3.2	Umsetzungen nach dem Oxazolin-Verfahren	34
2.4	Funktionalisierung des Disaccharids <u>58</u>	38
2.4.1	Einführung der Carbamoylgruppe	38
2.4.2	Abspaltung der Allylgruppe	40



2.4.3	Abspaltung der Silylgruppe	42
2.5	Phosphorylierungen nach dem Phosphitester- Verfahren	44
2.5.1	Wahl des Phosphitylierungsmittels	44
2.5.2	Oxidation von Trialkylphosphiten zu Tri- alkylphosphaten	49
2.5.3	Phosphorylierungsreaktionen	50
2.5.3.1	Phosphorylierung von 2,3,4,6-Tetra-O- benzyl- α -D-glucopyranose mit dem Phos- phitylierungsmittel <u>74</u>	52
2.5.3.2	Phosphorylierung des Disaccharids <u>63</u> mit dem Phosphitylierungsmittel <u>74</u>	55
2.6	Abspaltung der Schutzgruppen aus dem Phos- phorsäurediester <u>90</u>	59
2.6.1	Desilylierung der Verbindung <u>90</u>	59
2.6.2	Verseifung der Verbindung <u>91</u>	60
2.6.3	Strukturzuordnung der Verbindung <u>15</u>	62
3	Biologische Untersuchungen	64
3.1	In-vivo Tests	64
3.2	In-vitro Tests	66
3.3	Diskussion der Ergebnisse	68
4	Zusammenfassung	69
5	Experimenteller Teil	72
5.1	Verwendete Geräte, Materialien und Methoden	72
5.2	Herstellung von monosaccharidischen Bau- steinen	76

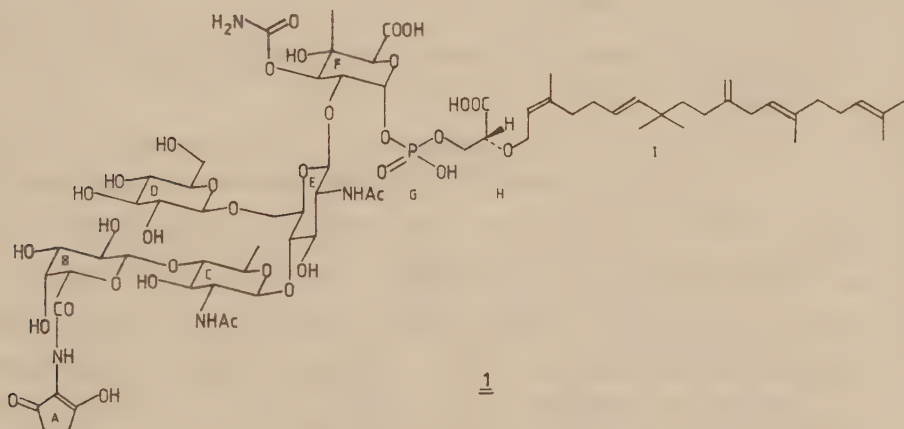
5.2.1	Herstellung der Glucosylakzeptoren	76
5.2.2	Herstellung der Glucosyldonatoren	82
5.3	Herstellung von β -glycosidisch verknüpften Disacchariden	87
5.3.1	Versuche zur Umsetzung der Verbindung <u>42</u> unter Trimethylsilyltrifluormethansulfonat- Katalyse	87
5.3.2	Umsetzung der Verbindung <u>43</u> nach dem Oxazolin-Verfahren	91
5.4	Reaktionen zur Funktionalisierung des Disaccharids <u>58</u>	94
5.4.1	Herstellung der Carbamoylderivate	94
5.4.2	Abspaltung der Allylgruppe aus den Disaccha- riden <u>60</u> und <u>61</u>	98
5.4.3	Desilylierung des Disaccharids <u>61</u>	100
5.5	Phosphorylierungsreaktionen	102
5.5.1	Herstellung von 2-Trichlormethyl-2-propyl- dichlorphosphit (<u>73</u>)	102
5.5.2	Herstellung von Bis(trimethylsilyl)per- oxid (<u>75</u>)	102
5.5.3	Phosphorylierung von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranose (<u>76</u>)	103
5.5.4	Phosphorylierung des Disaccharids <u>63</u>	108
5.6	Abspaltung der Schutzgruppen	112
5.6.1	Desilylierung des Phosphorsäurediesters <u>90</u>	112
5.6.2	Esterhydrolyse	113
5.7	Tabellen	115
6	Literaturverzeichnis	124

1 Einführung

1.1 Allgemeines zum Antibiotikum Moenomycin A

Das seit 1965 bekannte Antibiotikum Moenomycin A (1, Abb. 1)¹⁾ ist Hauptbestandteil des Flavomycin[®], einem Stoffwechselprodukt verschiedener Streptomyceten-Arten (u. a. *S. bambergensis*, *S. ghanaensis*). Der Komplex besteht aus einer Gruppe strukturell sehr ähnlicher Verbindungen²⁾, von denen neben der Hauptkomponente Moenomycin A (1) bisher lediglich das Moenomycin C₃ (2, Abb. 2)^{3,4)} rein isoliert werden konnte.

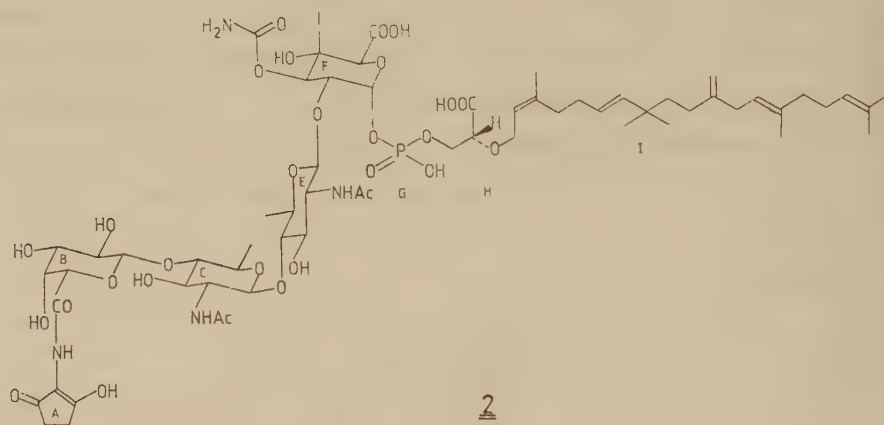
Abb. 1



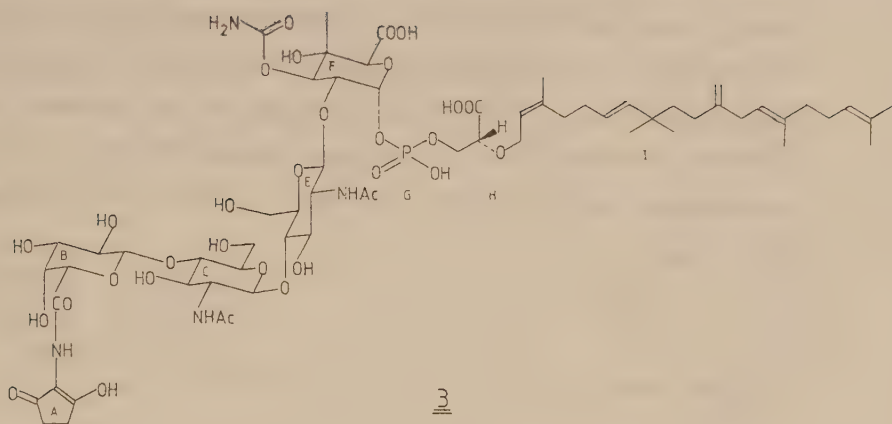
Die verschiedenen Moenomycine gehören zur Gruppe der Phosphoglycolipid-Antibiotika; weitere Mitglieder dieser Gruppe sind die Diumycine (Macarboomycine), Frasinomycine, Pholipomycin, Prenomycin, Teichomycin A₁, 11837 R. P., 8036 R. P. (Quebemycin), 19402 R. P. und Ensanchomycin²⁾. Die Phosphogly-

colipid-Antibiotika zeichnen sich durch eine hohe in-vivo Wirksamkeit gegen gram-positive Bakterien aus. Ihre Wirkung beruht auf einem Eingriff in die Biosynthese des bakteriellen Zellwandpolymers Peptidoglycan⁵⁾.

Abb. 2



Die Struktur des Antibiotikums Moenomycin A (1) wurde 1981 von *Welzel et al.* durch chemischen Abbau und spektroskopische Charakterisierung der Fragmente endgültig aufgeklärt⁶⁾. Die Struktur konnte später durch verbesserte spektroskopische Methoden bestätigt werden⁷⁾. Ferner existiert ein Strukturvorschlag für Moenomycin C₃ (2, Abb. 2)^{3,4)}. Von den übrigen Phosphoglycolipid-Antibiotika ist die Struktur von Pholipomycin (3, Abb. 3) aufgeklärt⁸⁾.



1.2 Antimikrobielle Eigenschaften und Wirkung

1.2.1 Antimikrobielle Eigenschaften

Phosphoglycolipid-Antibiotika wirken bereits in sehr geringen Konzentrationen bakteriostatisch gegen gram-positive Bakterien, während gram-negative Bakterien erst bei viel höheren Konzentrationen gehemmt werden⁹⁾. Die hier beobachtete hohe Aktivität bei proliferierenden gram-positiven Bakterien zeigen sonst nur noch die verschiedenen β -Lactam-Antibiotika^{2,5)}.

In der Humanmedizin wird Moenomycin nicht angewandt, da das Antibiotikum, oral verabreicht, nicht resorbiert wird (Nachweis erst bei zweitausendfacher Überdosierung) bzw. bei intravenöser oder intraperitonealer Applikation die biologische Halbwertszeit mit neun bis zehn Tagen zu groß ist¹⁰⁾. In der

Tiermedizin macht man sich jedoch den wachstumsfördernden Effekt, verbunden mit geringer Toxizität, bisher kaum beobachteten Resistenzen sowie fehlender Kreuzresistenz mit Penicillinen und Tetracyclinen zunutze und setzt Flavomycin[®] als Futtermittelzusatz ein. Wie Fütterungsversuche an Kälbern und Schweinen zeigten, ist der wachstumsfördernde Effekt auf eine Verminderung der Infektion von Zellen mit Plasmiden zurückzuführen¹¹⁾.

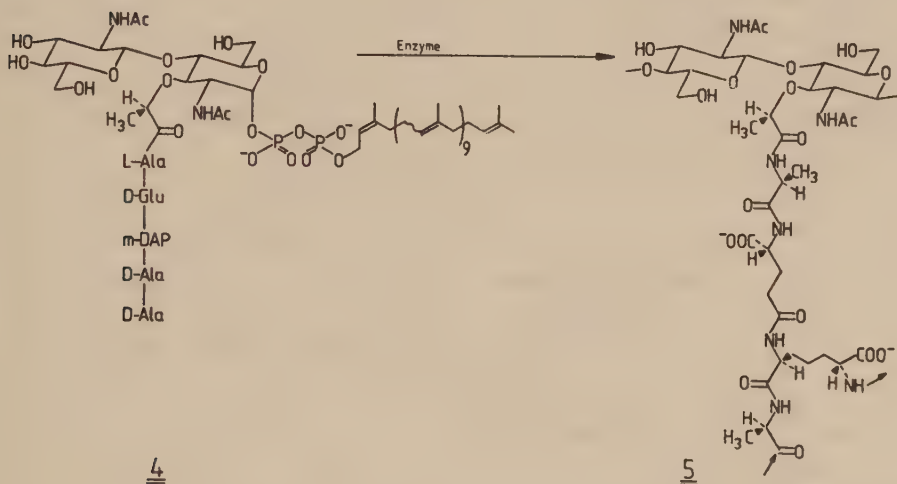
1.2.2 Wirkung

Es ist bekannt, daß Phosphoglycolipid-Antibiotika die Biosynthese des Peptidoglycans, dem Gerüstbaustein der bakteriellen Zellwand, unterdrücken²⁾. Aus N-Acetylglucosaminy-N-acetylmuramyl-(pentapeptid)-pyrophosphoryl-undecaprenol (4, Abb. 4), dem letzten membrangebundenen Vorläufer vor der Polymerisation zum Peptidoglycan, wird enzymatisch zunächst in einem Transglycosidierungsschritt die lineare Glycankette gebildet. In dem sich anschließenden enzymatischen Transpeptidierungsschritt erfolgt die Quervernetzung der Peptideinheiten zum Peptidoglycan (Abb. 4, hier gezeigt für *E. coli*)¹²⁾. Es konnte gezeigt werden, daß Moenomycin den Transglycosidierungsschritt in einem zellfreien System aus *E. coli* hemmt^{13,14)}. Ferner wurde beobachtet, daß Moenomycin sehr wirksam die Selbstverdauung (Autolyse) von *E. coli*-Zellen fördert^{5,15)}.

Bisher sind nur wenige strukturell anders gebaute Antibiotika mit wahrscheinlich gleichem Wirkungsmechanismus bekannt. Zu ihnen gehören die beiden schwefelhaltigen Polypeptidantibio-

tika Janiemycin¹⁶⁾ und Gardimycin¹⁷⁾, von denen zumindest Janiemycin über einen Lipidrest verfügt. Da diese jedoch nur einen Bruchteil der Aktivität von Moenomycin besitzen, scheint die Phosphoglycolipid-Struktur eine Voraussetzung für die hohe Affinität zur Transglycosylase zu sein.

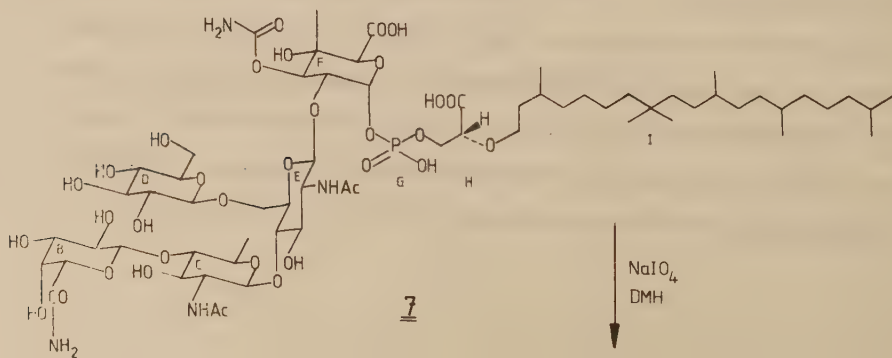
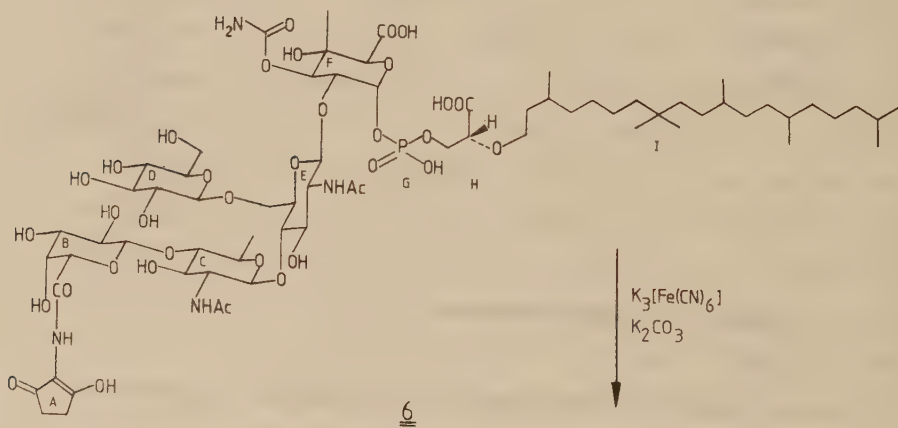
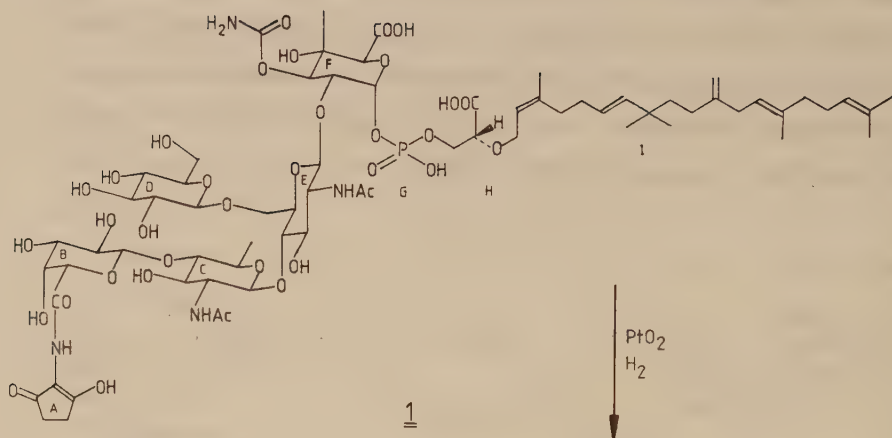
Abb. 4

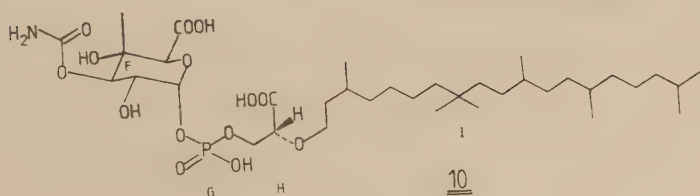
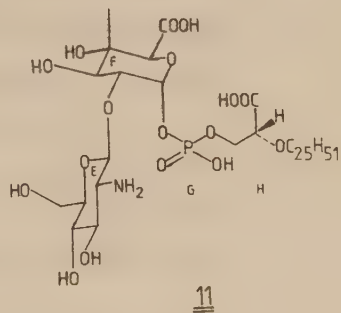
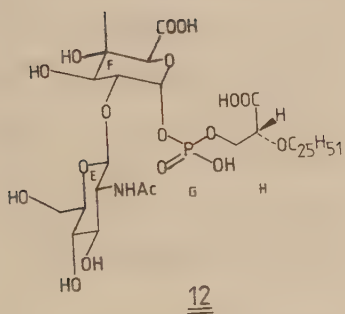
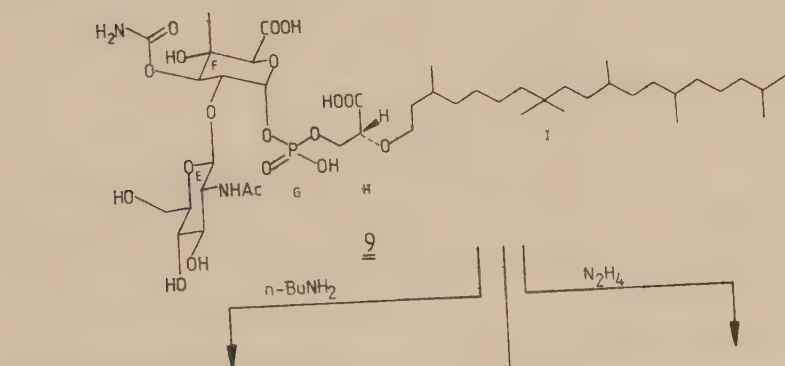
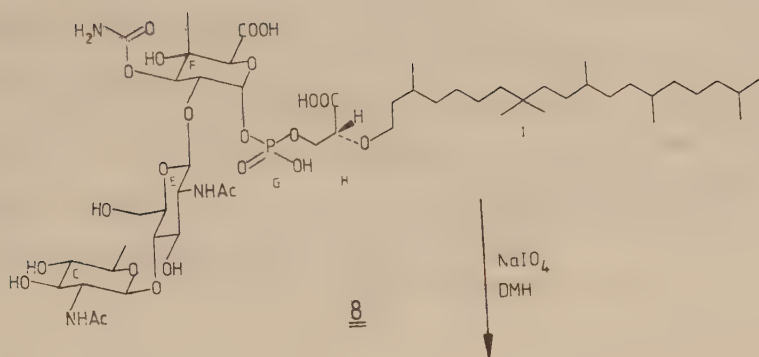


1.3 Struktur-Wirkungsbeziehungen

Durch geeignete Reaktionen ist es möglich, Moenomycin A selektiv abzubauen. Nach Hydrierung und oxidativer Abspaltung des Chromophors (A) erhält man durch Periodat-Oxidation und Barry-Abbau zunächst die Verbindung 8 (Abb. 5) und nach Wiederholung der Reaktionssequenz die Produkte 9 und 10 (Abb. 5). Die Umsetzung der Verbindung 9 mit Hydrazinhydrat liefert die Verbindung 11 und Umsetzung der Verbindung 9 mit n-Butylamin die Verbindung 12 (Abb. 5)^{18,19)}.

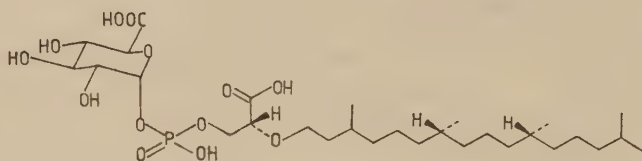
Abb. 5





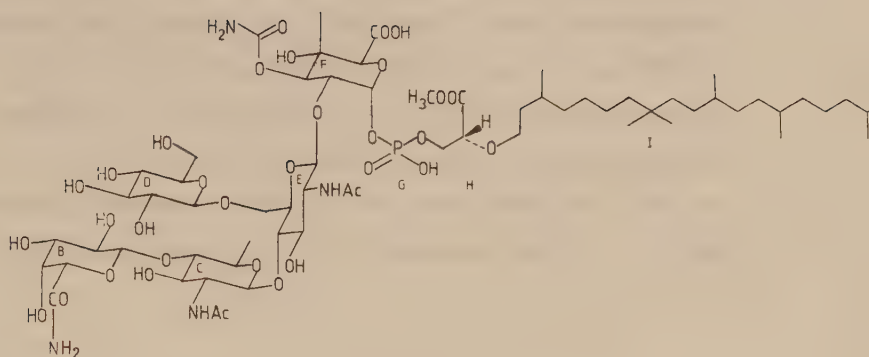
Um Aussagen über Struktur-Wirkungsbeziehungen zu erhalten, wurden sowohl die Abbauprodukte als auch synthetische Partialstrukturen auf ihre antibiotische Wirksamkeit hin untersucht. Die bisher synthetisierte Partialstruktur 13 (Abb. 6)²⁰⁾ weist ebenso wie das Abbauprodukt 10 keine antibiotische Wirksamkeit auf^{18,19,20)}, so daß diese monosaccharidischen Phosphoglycolipide ein zu einfaches Modell darstellen.

Abb. 6



13

Von den Abbauprodukten sind die Verbindungen 6, 7, 8 und 9 antibiotisch aktiv. Eine Veresterung der Säurefunktion in der Einheit H (Verbindung 14, Abb. 7) führt ebenfalls zu einem Verlust der Aktivität⁷⁾. Ferner konnte gezeigt werden, daß die Abbauprodukte 11 und 12 ebenfalls keine antibiotische Wirksamkeit besitzen, was zu dem Schluß führt, daß die Carbamoylgruppe ebenfalls für die antibiotische Aktivität wichtig ist¹⁹⁾.



14

Daraus ergibt sich, daß die Einheiten E, F, G, H und I essentiell für die biologische Wirkung sind. Ein Vergleich der Verbindung 9, dem bisher kleinsten wirksamen Bruchstück, mit dem Undecaprenyl-Disaccharid-Pentapeptid (4, Abb. 4), dem letzten Peptidoglycan-Vorläufer, zeigt auffallende Ähnlichkeiten. Zu klären bleibt, welche Rolle die Acetamidogruppe in Einheit E und die 4-C-Methyl- und die Carbonsäuregruppe in Einheit F spielen.

1.4 Aufgabenstellung

Nachdem durch chemischen Abbau von Moenomycin A Verbindung 9 als kleinste wirksame Einheit festgelegt werden konnte, bietet sich für weitergehende Untersuchungen der antibiotischen Wirksamkeit und der Struktur-Wirkungsbeziehungen die Totalsynthese analoger Bausteine an.

Nach einem Vergleich der Verbindungen 9 und 4 (Abb. 8) erschien das Moenomycin-Analogon 15 (Abb. 8) als ein lohnendes Syntheseeziel. Das Zielmolekül 15 enthält im Gegensatz zu Verbindung 9 aber analog zu Verbindung 4 an C-6 (F) eine Hydroxylfunktion. Auf einer späten Stufe der Synthese sollte die Möglichkeit bestehen, diese Hydroxylfunktion - falls erforderlich - zur Carbonsäure zu oxidieren. Ferner fehlt dem Molekül 15 die 4-C-Methylgruppe in F, die in 9 vorhanden ist.

2 Allgemeiner Teil

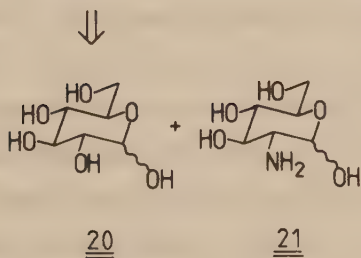
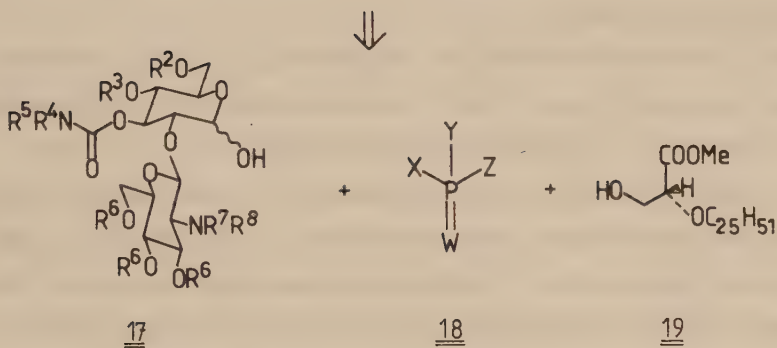
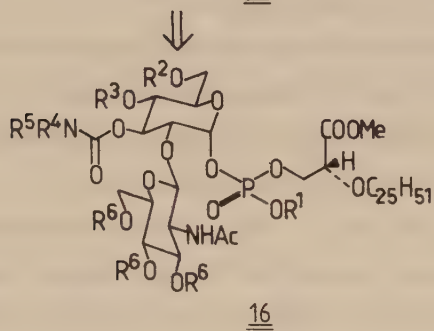
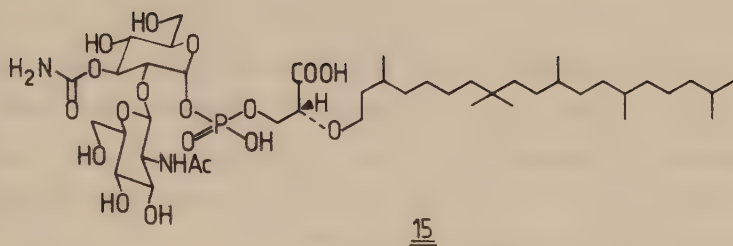
2.1 Syntheseplan

2.1.1 Retrosynthetische Betrachtungen

Eine retrosynthetische Betrachtung des Zielmoleküls 15 (Abb. 9) führt über den vollständig geschützten Phosphorsäure-triester 16 mit α -Konfiguration an C-1 des Glucose-Bausteins nach Spaltung der Phosphorsäureester-Bindungen zum Glycerinsäure-Derivat 19, dem Disaccharid 17 und einem Phosphorylierungsmittel 18. Spaltung der glycosidischen Bindung in 17 ergibt dann letztendlich die Ausgangsprodukte D-Glucose (20) und 2-Amino-2-desoxy-D-glucose (21).

Diese kurze retrosynthetische Betrachtung gliedert die Synthese in folgende Schüsselschritte:

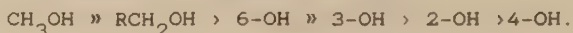
- a) Darstellung eines geschützten (β 1 $\rightarrow$ 2)-verknüpften Disaccharids aus 2-Amino-2-desoxy-D-glucose und D-Glucose,
- b) Auswahl eines geeigneten Phosphorylierungsverfahrens zur stereoselektiven Verknüpfung (α -Konfiguration an C-1 der Glucose-Einheit) des Disaccharids mit 19 und
- c) nach Überprüfung der antibiotischen Wirksamkeit gegebenenfalls Oxidation von CH₂-6 der Glucose-Einheit zur Carboxyl-Funktion.



2.1.2 Methoden zur Glycosidsynthese

Für die Synthese komplexer Oligosaccharide stehen heute eine Reihe von Methoden zur Verfügung²¹⁾. Insbesondere für die klassische Koenigs-Knorr-Methode und ihrer Varianten ergibt sich inzwischen ein relativ übersichtliches Bild bezüglich Reaktivität und Stereoselektivität^{21a,b)}:

- a) Die Reaktivität des Glycosyldonors wird durch die Wahl des Halogenids und der Schutzgruppen gesteuert.
- b) Die Reaktivität des Glycosylakzeptors nimmt in etwa in der angegebenen Reihenfolge (D-Glucose) ab:



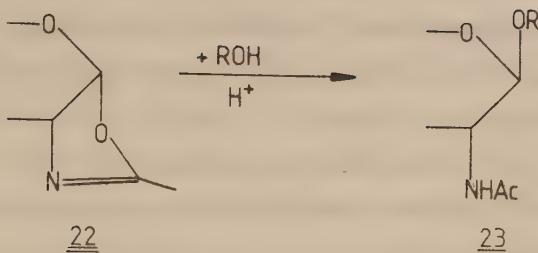
Sie kann durch die Wahl der Schutzgruppen angepaßt werden.

- c) Die Reaktivität kann durch die Wahl des Katalysatorsystems gesteuert werden.
- d) Die Stereoselektivität der Verknüpfung wird durch Nachbargruppenbeteiligung, in-situ-Anomerisierung von α -Glycosylhalogeniden oder heterogene Katalyse erreicht.

Die Mehrzahl der Verfahren, die zur Oligosaccharidsynthese ohne Schwermetallsalze entwickelt wurden, wird bis heute eher skeptisch beurteilt. Das Trichloracetimidat-Verfahren von *Schmidt* stellt allerdings eine wichtige Alternative dar^{21c)}.

Für die Darstellung eines (B1 $\rightarrow$ 2)-glycosidisch verknüpften Disaccharids vom Typ 17 (Abb. 9) aus einem 2-Amino-2-desoxy-D-glucose-Derivat als Glycosyldonor und einem D-Glucose-Derivat als Glycosylakzeptor gibt es verschiedene Möglichkeiten^{21a)}.

Die bekannteste Methode ist das Oxazolin-Verfahren. Hierbei wird ein Oxazolin 22 (Abb. 10) mit einem Alkohol umgesetzt. Als Katalysator wird p-Toluolsulfonsäure benutzt.



Ebenfalls nachbargruppenaktiv ist die sterisch anspruchsvolle Phthalimidogruppe an C-2. Beim Phthalimid-Verfahren dient Silbertriflat in Gegenwart von *s*-Collidin als Katalysator. Der Phthalimid-Rest wird mittels Hydrazin²²⁾ oder *n*-Butylamin²³⁾ bei höheren Temperaturen abgespalten.

Will man 2-Azido-glucopyranosylhalogenide zur Darstellung von β -Glucosiden nutzen, so benötigt man den sehr reaktiven Silbersilikat-Katalysator, damit die Reaktion in heterogener Phase abläuft^{21a)}. Die Azidogruppe kann reduktiv in die Aminogruppe umgewandelt werden²⁴⁾.

In letzter Zeit wurden auch eine Reihe von Lewis-Säuren zur Darstellung von β -Glucosiden des hier interessierenden Typs (Stickstoff-Funktion an C-2) verwendet. Hierbei wurden Eisen-(III)-chlorid (β -1-O-Acetyl-Derivate, die über eine Oxazolin-Zwischenstufe abreagieren²⁵⁾), Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (Oxazoline²⁶⁾ oder β -1-O-Acetyl-2-phthalimido-Derivate^{26,27)} und Bortrifluorid-Diethyletherat (α -1-O-Trichloracetimide von 2-Azido-Zuckern²⁸⁾ und β -1-O-Trichloracetimide von 2-Phthalimido-Zuckern²⁹⁾) erfolgreich eingesetzt.

Ferner fand zur Darstellung eines β -Glucosids Dimethyl(methylthio)sulfoniumtrifluormethansulfonat (β -1-S-Ethyl-2-phthalimido-Derivat³⁰⁾) Verwendung.

Von den nach dieser kurzen Übersicht zur Verfügung stehenden Glycosyldonatoren - Oxazolin-, 2-Phthalimido- und 2-Azido-Derivate - scheiden die Phthalimido-Derivate aus, da eine Abspaltung dieser Gruppe mit Hydrazin oder n-Butylamin auch zum Verlust der essentiellen Carbamoylgruppe führen würde³⁾. Inwiefern das System Natriumborhydrid/2-Propanol/Acetanhydrid³¹⁾ zur Abspaltung der Phthalimidogruppe in der Zuckerchemie geeignet ist, ist bisher nicht bekannt.

Für die Synthese eines Disaccharids vom Typ 17 sollte daher das Oxazolin- oder das Azid-Verfahren zur Anwendung kommen. Außerdem sollte die Möglichkeit einer Trimethylsilyltrifluormethansulfonat-katalysierten Reaktion untersucht werden.

2.1.3 Phosphorylierungsmethoden

Das steigende Interesse an biochemisch interessanten Phosphaten und die Fortschritte in der Molekularbiologie haben in den letzten Jahren die Entwicklung neuer Phosphorylierungsmethoden forciert. Aus dem Bereich der DNA-Synthese stehen heute drei Methoden³²⁾ mit einer Reihe verschiedener Phosphorylierungsreagenzien für die Darstellung von Phosphorsäureestern zur Auswahl:

1. Phosphodiester-Verfahren
2. Phosphotriester-Verfahren
3. Phosphitester-Verfahren

Alle Verfahren können sowohl in homogener Lösung als auch an fester Phase durchgeführt werden. Weiterentwicklungen des

Phosphitester-Verfahrens sind die Phosphorditriazole bzw. -tetrazole³³⁾, die Phosphoramidite³⁴⁾ und die Phosphordiamidite³⁵⁾. Neuere Varianten benutzen Phosphorthioite³⁶⁾ oder H-Phosphonate³⁷⁾.

Im Gegensatz dazu gestaltet sich die Strategie bei der Phosphorylierung von Sacchariden weniger einheitlich. Während die Umsetzung von einzelnen, nicht anomeren Hydroxylgruppen nach dem Phosphotriester-Verfahren leicht durchzuführen ist³⁸⁾, ist die Synthese von Glycosylphosphaten durch Phosphorylierung der anomeren Alkoholgruppe weniger weit fortgeschritten. Alle bisher hierfür entwickelten Verfahren wurden nur an wenigen Zuckern mit speziell auf das entsprechende Problem zugeschnittenen Reagenzien durchgeführt.

Bei der Mehrzahl der beschriebenen Synthesen ist die anomere Hydroxylgruppe einer direkten Phosphorylierung nicht zugänglich. Sie muß zunächst in ein Halogenid (Umsetzung mit Silberphosphat^{39a)}, Ammoniumphosphat^{39b)} oder Trialkylstannylphosphaten⁴⁰⁾, ein Acetat (Umsetzung mit wasserfreier Phosphorsäure⁴¹⁾, einen 1,2-Orthoester (Umsetzung mit Phosphorsäuremonoestern und -diestern⁴²⁾), ein 1,2-Oxazolin (Umsetzung mit Phosphorsäurediestern⁴³⁾), ein 1-O-Thalliumsalz (Umsetzung mit einem Dialkyl- oder Diarylchlorophosphat⁴⁴⁾), ein 1-O-Lithiumsalz (Umsetzung mit einem Diarylchlorophosphat⁴⁵⁾) oder ein Trichloracetimidat (Umsetzung mit Phosphorsäuremonoestern und -diestern⁴⁶⁾) umgewandelt werden.

Zu den wenigen Reagenzien, die eine direkte Phosphorylierung der freien anomeren Alkoholfunktion zulassen, gehören das o-Phenylenphosphorochloridat⁴⁷⁾ und die cyclischen Enolphosphate⁴⁸⁾.

Meist wird die Konfiguration des entstehenden Glycosylphosphats durch die Wahl des Glycosylderivates festgelegt.

Mit Ausnahme der Phosphorylierung der Trichloracetimide und der Umsetzung mit den cyclischen Enolphosphaten erhält man bei den oben beschriebenen Reaktionen Phosphorsäuremonoester, die nach dem Phosphodiester-Verfahren zu den Phosphorsäurediestern umgesetzt werden müssen. Auch hierfür sind Beispiele bekannt⁴⁹⁾.

In jüngster Zeit wurden zur Phosphorylierung der anomeren Alkoholfunktion von Sacchariden zunehmend die neuen Methoden aus der Oligonucleotidchemie übernommen. Neben dem Phosphitester-Verfahren⁵⁰⁾ fanden auch die Phosphoramidit-Variante⁵¹⁾ und die H-Phosphonat-Variante⁵²⁾ Verwendung.

Die Phosphorylierung der anomeren Hydroxylfunktion eines Disaccharids vom Typ 17 sollte nach dem Phosphitester-Verfahren erfolgen. Die meisten anderen zuvor erwähnten Methoden sind aus den verschiedensten Gründen (falsche Konfiguration der gebildeten C-OP-Bindung, zu drastische Reaktionsbedingungen u. a.) nicht für das gestellte Problem geeignet.

2.2 Herstellung geeignet funktionalisierter Monosaccharide

2.2.1 Herstellung von Glucosylakzeptoren

Ein wesentlicher Bestandteil bei der Vorbereitung einer Synthese in der Kohlenhydratchemie ist die Wahl der Schutzgruppen. Man unterscheidet dabei zwischen temporären (Gruppen, die eine Hydroxylfunktion nur für einen bestimmten Zeitraum der

Synthese blockieren) und permanenten Schutzgruppen (Gruppen, die eine Hydroxylfunktion während der gesamten Synthese blockieren). Die Auswahl ist so zu treffen, daß mit möglichst wenig Schutzgruppen eine effiziente Synthese durchgeführt werden kann.

Für das gewählte Syntheseziel bedeutet dies:

- An der anomeren Hydroxylgruppe der Glucose-Einheit wird eine selektiv abspaltbare Schutzgruppe benötigt, um das synthetisierte Disaccharid phosphorylieren zu können.
- Die 2-Position muß für die Umsetzung mit dem Glycosyldonor frei bleiben.
- In die 3-Position muß nach der Bildung des Disaccharids die Carbamoylgruppe eingeführt werden, was auch hier den Einsatz einer temporären Schutzgruppe bedeutet.
- Die sekundäre Hydroxylfunktion an C-4 und die primäre an C-6 müssen so geschützt werden, daß eine Oxidation zur Carbonsäure auf einer späteren Stufe der Synthese möglich ist.

Zum Schutz der anomeren Hydroxylfunktion stehen verschiedene Gruppen zur Verfügung. Zur temporären Blockierung wurden in dieser Synthese die 2,2,2-Trichlorethylgruppe und die Allylgruppe gewählt.

Bei der Glycosidierung von 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- α -D-glucopyranose mit 2,2,2-Trichlorethanol wird das β -Anomere isoliert. Die Schutzgruppe kann mit Zinkpulver in Eisessig⁵³⁾ oder Zink/Kupfer-Paar in Pyridin⁵⁴⁾ abgespalten werden.

Ein α -Glucopyranosid erhält man mit der Allylschutzgruppe. Dieser Ether kann unter einer Vielzahl von Bedingungen gespalten werden. Die meisten Verfahren zur Abspaltung der Allylgruppe verlaufen zweistufig. Hierbei wird zunächst der Allylether

zum Propenylether isomerisiert, und anschließend wird dieser gespalten.

Zur Isomerisierung der Allylgruppe sind bisher Kalium-tert-butylat in Dimethylsulfoxid bei erhöhter Temperatur⁵⁵⁾, Wilkinson-Katalysator mit 1,4-Diazobicyclo[2.2.2]octan bei erhöhter Temperatur^{55b,56)} und mit Wasserstoff aktiviertes 1,5-Cyclooctadien-bis[methyl(diphenyl)phosphin]-iridiumhexafluorophosphat⁵⁷⁾ verwendet worden.

Zur anschließenden Abspaltung der Propenylgruppe eignen sich Säuren^{55a,56)}, Ozon^{55a)}, Kaliumpermanganat in Natriumhydroxidlösung^{55a)}, Jod in Tetrahydrofuran/Wasser⁵⁸⁾ und ein Gemisch aus Quecksilber-(II)-oxid und Quecksilber-(II)-chlorid⁵⁹⁾. Das mildestes Verfahren besteht hier in der Kombination eines Übergangsmetallkatalysators mit dem Gemisch aus Quecksilber-(II)-oxid und Quecksilber-(II)-chlorid.

Neben diesen zweistufigen Verfahren sind auch einstufige bekannt, die vermutlich ebenfalls über eine Propenylzwischenstufe verlaufen. Eingesetzt werden Palladium auf Kohlenstoff mit starken Säuren bei erhöhter Temperatur⁶⁰⁾ oder Palladium-(II)-chlorid in einem Puffergemisch aus Essigsäure, Wasser und Natriumacetat bei Raumtemperatur⁶¹⁾.

Zum Schutz der 4- und 6-Position wurde das bifunktionelle Silylierungsreagenz 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan ausgewählt.

Bei D-Glucose gilt nach *Paulsen* für die Reaktivität der Hydroxylgruppen^{21a)}

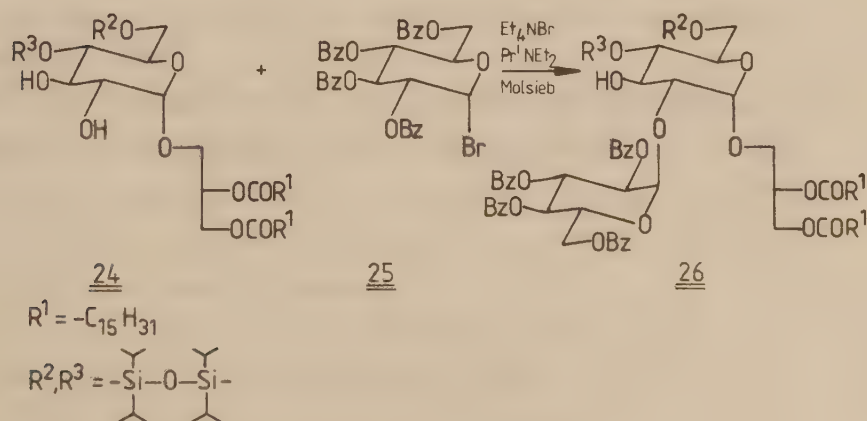


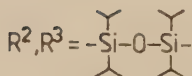
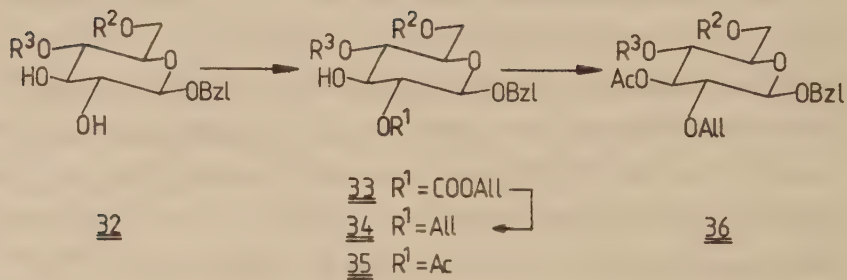
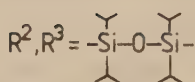
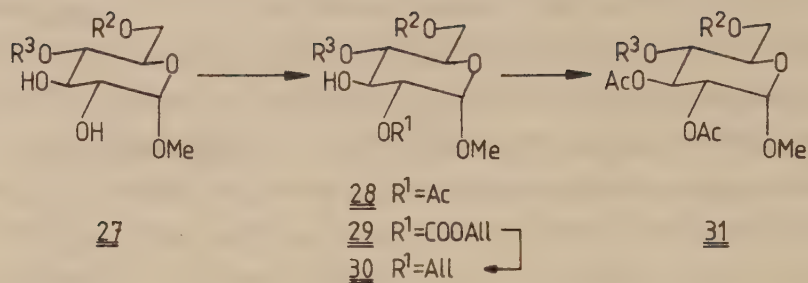
Diese Reaktivitätsabstufung ist auch bei der Glycosidierung der Anomeren des Methyl-4,6-O-benzyliden-D-glucopyranosids gefunden

worden⁶²⁾. Bei dem α -Glucopyranosid wurde ein Verhältnis von 1 : 1.61 und bei dem β -Glucopyranosid von 1 : 1.13 zugunsten des (1-3)-verknüpften Disaccharids gefunden. Aufgrund sterischer Hinderung ist zu erwarten, daß man bei der Glycosidierung eines mit dem oben genannten bifunktionellen Silylierungsreagenz in der 4- und 6-Position geschützten Zuckers die 3-Position nicht blockieren muß. Andererseits ist zu erwarten, daß durch Einsetzen des sehr reaktiven Trichloracetylisocyanats die Einführung der Carbamoylgruppe in die 3-Position gelingt.

Durch einige Literaturbeispiele läßt sich belegen, daß die 3-Position tatsächlich durch sterische Hinderung abgeschirmt ist. So konnte Verbindung 24 (Abb. 11) selektiv in das (α 1-2)-verknüpfte Disaccharid 26 überführt werden (44.8% Ausbeute)⁶³⁾. Unter milden Bedingungen können die Verbindungen 27 und 32 auch selektiv acyliert^{64,65)} oder alkyliert⁶⁵⁾ werden (Abb. 12). Unter drastischeren Bedingungen ist es möglich, die entstandenen Verbindungen in der 3-Position zu acetylieren (Abb. 12)^{64,65)}.

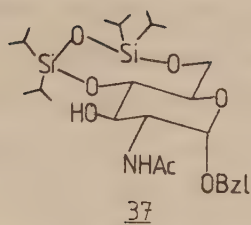
Abb. 11





Auch kann Verbindung 37 (Abb. 13) unter normalen Bedingungen nicht trityliert werden. Eine Acetylierung gelingt dagegen⁶⁶⁾.

Abb. 13



Für die Abspaltung der Disiloxanschutzgruppe stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung. Wie bei jeder Silylverbindung führt der Einsatz von Fluoridionen, wie zum Beispiel von Tetra-n-butylammoniumfluorid oder Tri-n-butylammoniumfluorid, zum Verlust der Schutzgruppe. Auch mit 0.2 M Salzsäure in 1,4-Dioxan/Wasser oder mit 0.2 M Natronlauge in 1,4-Dioxan/Wasser kann diese Gruppe abgespalten werden⁶⁷⁾.

Katalytische Mengen Mesitylensäure in absolutem N,N-Dimethylformamid führen zu einem Umlagerungsprodukt, in dem nun die 3- und die 4-Position geschützt sind⁶⁴⁾. Ebenfalls unter sauren Bedingungen kann das cyclische Disiloxan am primären Ende geöffnet werden. Basische Bedingungen oder Tri-n-butylammoniumfluorid führen dagegen zu dem am sekundären Ende geöffneten Produkt^{67,68)}.

Nicht angegriffen wird die Disiloxangruppe dagegen von 10proz. Trifluoressigsäure in Trichlormethan und ca. 0.3 M p-Toluolsulfonsäure in 1,4-Dioxan sowie von tertiären Aminen wie Triethylamin und Pyridin, 5 M Ammoniaklösung in 1,4-Dioxan/Wasser und Isobutylamin in Methanol⁶⁷⁾.

Ferner ist bekannt, daß diese Schutzgruppe gegenüber löslichen Silber- und Quecksilbersalzen instabil ist⁶⁹⁾.

Die Darstellung von 2',2',2'-Trichlorethyl-β-D-glucopyra-

nosid (40) erfolgte ausgehend von D-Glucose in drei Schritten in 12proz. Ausbeute (Abb. 14). Zunächst wurde 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- β -D-glucopyranose (38) ausgehend von D-Glucose mittels Essigsäureanhydrid/Kaliumacetat hergestellt⁷⁰⁾. 38 wurde dann mit 2,2,2-Trichlorethanol unter Bortrifluorid-Diethyletherat-Katalyse zum 2',2',2'-Trichlorethyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid (39b) umgesetzt. Das entsprechende α -Anomere entstand als Nebenprodukt⁷¹⁾. Zemplén-Abbau⁷²⁾ lieferte schließlich die gewünschte Verbindung 40.

Allyl- α -D-glucopyranosid (41) wurde in 35proz. Ausbeute durch Umsatz von D-Glucose mit Allylalkohol unter saurer Katalyse erhalten (Abb. 14)⁷³⁾.

In beiden Verbindungen 40 und 41 ließen sich durch Umsatz mit 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan die 4- und 6-Position gleichzeitig schützen (Abb. 14)^{57b)}.

Ob die 4- und die 6-Position tatsächlich blockiert waren, konnte weder dem ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung 42 noch dem ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung 43 entnommen werden. Für Verbindung 43 stimmten jedoch die spektroskopischen Daten mit Literaturangaben überein^{57a)}. Dies traf auch auf das aus 43 durch Acetylierung gewonnene Derivat 44 (Abb. 15) zu^{57a)}. Aufgrund der identischen Reaktionsführung wurde für Verbindung 42 ebenfalls angenommen, daß die 4- und die 6-Position geschützt waren.

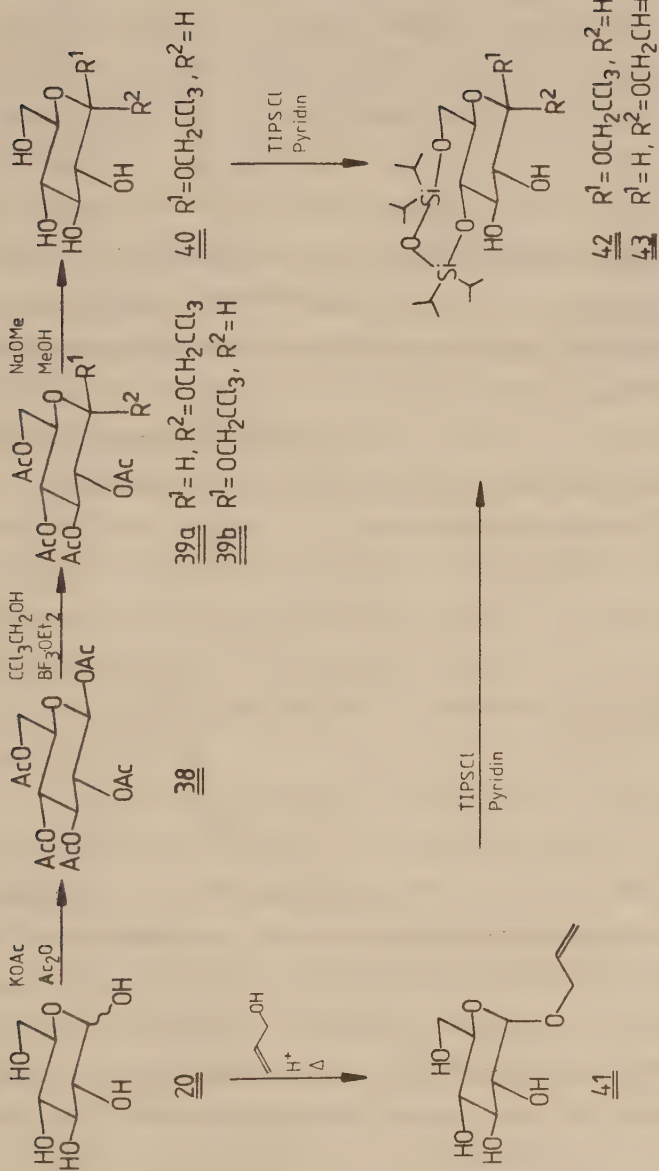
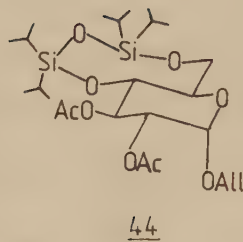


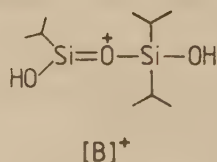
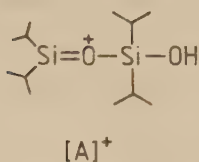
Abb. 15



In den DEPT-Spektren der silylierten Verbindungen findet man, im Gegensatz zu Literaturangaben^{57b,65)}, die Absorptionen der CH_3 -Gruppen der vier Isopropylgruppen bei tieferem Feld als die der CH-Gruppen.

Charakteristisch für die Disiloxanschutzgruppe sind im Massenspektrum zwei Peaks bei $m/z = 261$ ($[\text{A}]^+$, Abb. 16) und $m/z = 235$ ($[\text{B}]^+$, Abb. 16).

Abb. 16



Es standen somit zwei Glycosylakzeptoren mit unterschiedlicher Konfiguration am anomeren C-Atom zur Verfügung. Von diesen beiden Verbindungen war Verbindung 43 in einer kürzeren Synthesesequenz in größerer Ausbeute erhältlich. Auch die Möglichkeiten der Abspaltung der Schutzgruppe am anomeren C-Atom erscheinen in Verbindung 43 vielfältiger.

2.2.2 Herstellung von Glucosyldonatoren

Auch bei der Synthese der Glucosamin-Einheit stellt sich die Frage nach den Schutzgruppen. Im letzten Schritt der Synthese muß eine Esterhydrolyse vorgenommen werden, die die Säurefunktion von H, die als Methylester bei der Phosphorylierungsreaktion eingeführt wird, in Freiheit setzt. Es bietet sich daher die Acetylschutzgruppe an, die dann im letzten Deblockierungsschritt mit abgespalten werden kann. Diese Esterhydrolyse verläuft im Alkalischen rasch. Es stehen hierfür verschiedene Methoden zur Verfügung, wie z. B. Lithiumhydroxid in Tetrahydrofuran/Wasser^{74a)}, Kaliumcarbonat in Methanol^{74b)} oder methanolisches Ammoniak^{72b)}.

Für die Glucosidsynthese wurden als Donatoren 3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid für das Azidverfahren und 2-Methyl-(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-didesoxy- α -D-glucopyrano)-[2,1-d]-2-oxazolin für das Oxazolinverfahren sowie 2-Acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranose für die Trimethylsilyltrifluormethansulfonat-katalysierte Reaktion gewählt.

Für Versuche mit dem Azidverfahren wurde 3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid (48, Abb. 17) hergestellt. Dieses war in zwei Schritten aus 3,4,6-Tri-O-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxy-D-arabino-hex-1-enitol (45) zugänglich⁷⁵⁾. Hierzu wurde zunächst das Glucal 45 mit Natriumazid und Ammoniumhexanitratocerat-(IV) in Acetonitril bei -20°C umgesetzt. Nach Ausschütteln mit kaltem Diethylether wurden ¹H-NMR-spektroskopisch die drei Isomere 3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-glucopyranosylnitrat (46a), 3,4,6-Tri-O-acetyl-

2-azido-2-desoxy- β -D-glucopyranosylnitrat (46b) und 3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-mannopyranosylnitrat (47) im Verhältnis 0.5 : 0.8 : 1.0 nachgewiesen.

Das Verhältnis der gluco-Form 46 zur manno-Form 47 betrug demnach 1.3 : 1.0. In einem anderen Ansatz konnte durch Säulenchromatographie das manno-Produkt 47 in 31proz. Ausbeute rein erhalten werden. Die Glucosederivate 46a und 46b wurden als Gemisch in 18proz. Ausbeute isoliert. Das Verhältnis der Anomeren 46a und 46b betrug 1 : 1.4 ($^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch bestimmt). Daneben enthielt das Substanzgemisch laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum noch 10 % von 47 (nachgewiesen durch das ^1H -Signal bei $\delta = 6.21$), obwohl Verbindung 47 in dieser Fraktion dünnschichtchromatographisch nicht nachgewiesen werden konnte. Außerdem wurde in 27proz. Ausbeute eine Mischfraktion aus 46a, 46b und 47 gewonnen.

In der Literatur wird ein Verhältnis von gluco- zu manno-Form von etwa 2 : 1 angegeben⁷⁶⁾. Durch Erniedrigung der Temperatur wird die Bildung der manno-Verbindung noch begünstigt. So entstanden die Isomeren 46a, 46b und 47 in Acetonitril bei -40°C im Verhältnis von 1.0 : 1.0-1.5 und in Essigsäureethylester/Acetonitril (3 : 1) bei -40°C sogar im Verhältnis von 1.0 : 2.5-3.0⁷⁶⁾. Andererseits kann ein Verhältnis von 6.4 : 1.0 zugunsten der gluco-Form erreicht werden, wenn man das Glucal 45 bei 0°C unter Bestrahlung mit Chlorazid und anschließend mit Quecksilber-(II)-acetat zu den Tetraacetaten 50a, 50b und 50c (Abb. 18) umsetzt⁷⁷⁾.

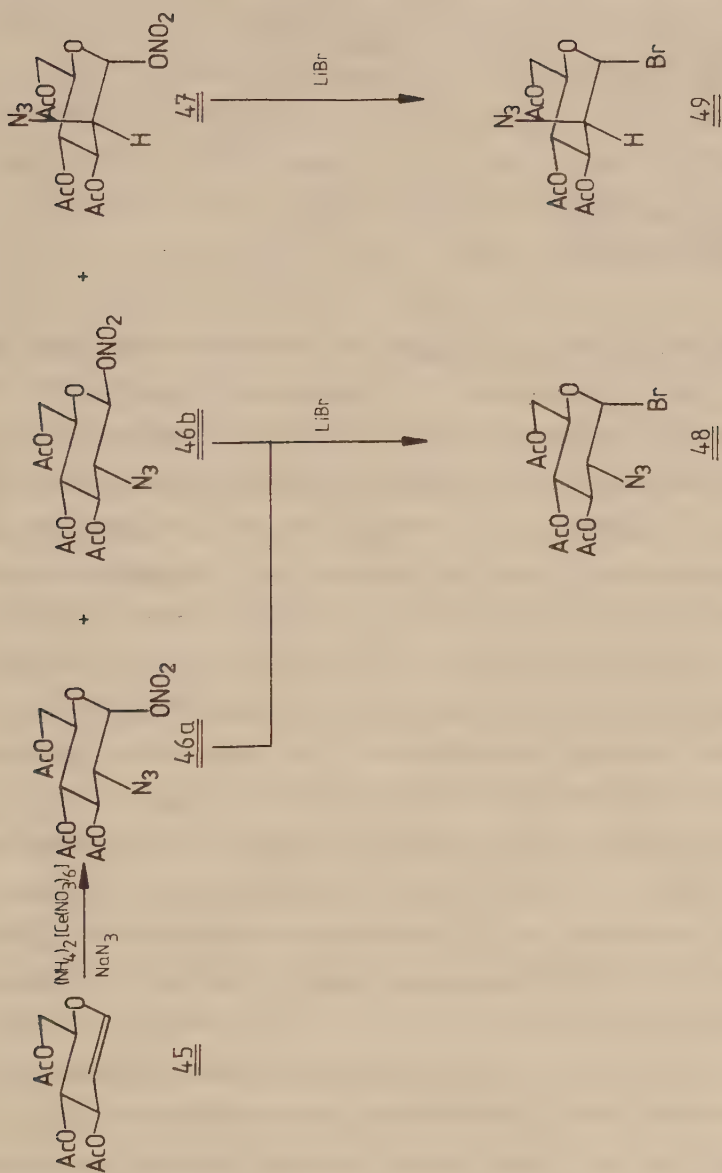
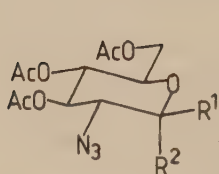
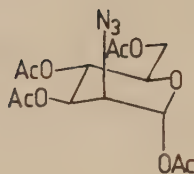


Abb. 18



50a $R^1 = H, R^2 = OAc$

50b $R^1 = OAc, R^2 = H$



50c

Um zu 48 und 49 zu gelangen, wurden die Nitrate 46a, 46b und 47 mit Lithiumbromid in Acetonitril umgesetzt⁷⁵⁾. Im Gegensatz zu Literaturangaben⁷⁵⁾, wo eine Trennung des Diastereomerengemisches in der galacto-Reihe erst auf der Stufe der Bromide durchgeführt wurde, erwies es sich hier als notwendig, das manno-Produkt 47 vor der Umsetzung mit Lithiumbromid abzutrennen. Es konnte gezeigt werden, daß im Dünnschichtchromatogramm (Toluol/Diethylether 3 : 1) das Bromid 48 aus den Nitraten 46a und 46b und das Nitrat 47 identische R_f -Werte aufwiesen. Es war daher nicht möglich, den Umsatz von allen drei Isomeren dünn-schichtchromatographisch zu verfolgen.

Die Umsetzung des manno-Produktes 47 mit Lithiumbromid ergab in 26proz. Ausbeute das α -Bromid 49 neben nicht umgesetztem 47. Die Reaktion der anomeren gluco-Verbindungen 46a und 46b unter denselben Bedingungen ergab in 24proz. Ausbeute das α -Bromid 48 (Abb. 17).

Bessere Ausbeuten können durch den Einsatz von Titan-(IV)-bromid anstelle von Lithiumbromid erreicht werden. Die Reaktionszeit beträgt hier jedoch 15 Tage für die gluco-Derivate⁷⁸⁾. Tauscht man die Acetylgruppen gegen Benzylgruppen aus,

so verkürzt sich die Reaktionszeit zur Herstellung des Bromids drastisch. Man erhält dann einen wesentlich reaktiveren Glucosyldonor⁷⁸⁾.

Durch Umsatz des Glucals 45 mit Chlorazid/Quecksilber-(II)-acetat und anschließende Reaktion mit Titan-(IV)-bromid ließe sich also die Ausbeute an 48 noch wesentlich steigern. Auch die Reaktivität des Glucosyldonors ließe sich durch Austausch der Schutzgruppen erhöhen. Diese Synthese wurde jedoch nicht weiter verfolgt, da zu diesem Zeitpunkt bereits erfolgversprechende Ergebnisse bei der Disaccharidsynthese nach dem Oxazolin-Verfahren vorlagen.

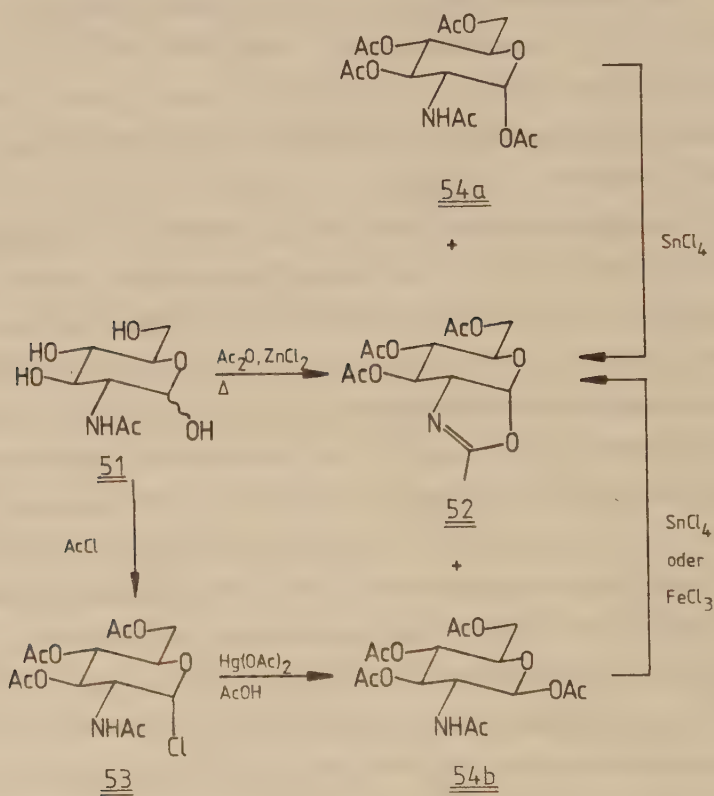
Als weiterer Glucosyldonor war 2-Acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranose (54b) gewählt worden. 54b ist in einer zweistufigen Synthese aus 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (51) herstellbar. Der Umsatz von 51 mit Acetylchlorid lieferte 2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosylchlorid (53)⁷⁹⁾, das nach Kristallisation direkt mittels Eisessig/Quecksilber-(II)-acetat zu Verbindung 54b acetyliert wurde (Abb. 19)⁸⁰⁾. In 29proz. Ausbeute stand mit Verbindung 54b ein Glucosyldonor für Trimethylsilyltrifluormethansulfonat-katalysierte Glycosidierungen zur Verfügung.

Ferner kann die Acetylverbindung 54b mit Zinn-(IV)-chlorid⁸¹⁾ oder mit Eisen-(III)-chlorid⁸²⁾ in 2-Methyl-(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-didesoxy- α -D-glucopyrano)-[2,1-d]-2-oxazolin (52) umgewandelt werden (Abb. 19), das für Glycosidierungen nach dem Oxazolin-Verfahren benötigt wurde.

Die Herstellung von 52 erfolgte hier jedoch in einer einstufigen Synthese durch Umsatz von 51 mit Essigsäureanhydrid/Zink-(II)-chlorid (Abb. 19). Neben 52, daß in 50proz. Ausbeute

isoliert wurde, fielen in 44proz. Ausbeute die beiden Anomeren der 2-Acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-desoxy-D-glucopyranose (54a und 54b) an⁸³⁾, die zur weiteren Steigerung der Ausbeute in das Oxazolin 52 überführt werden können (Abb. 19)⁸¹⁾.

Abb. 19



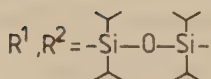
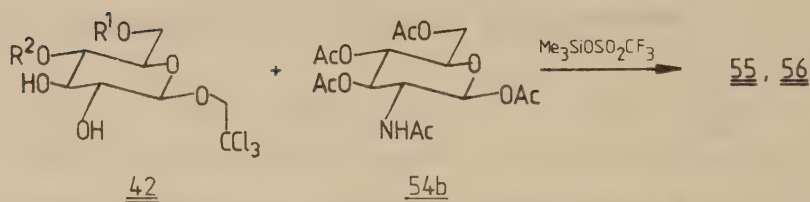
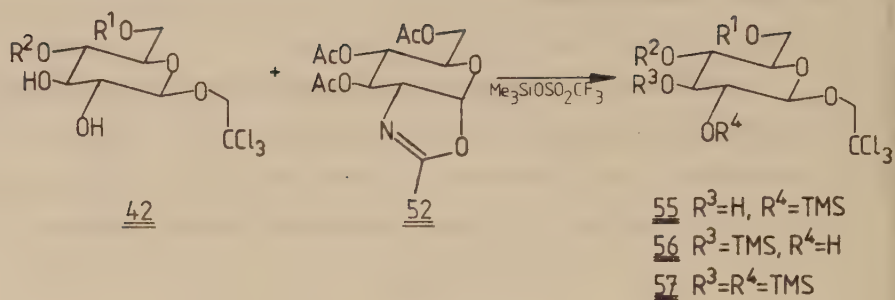
2.3 Reaktionen zur Herstellung (81-2)-verknüpfter Disaccharide

Das Oxazolin-Verfahren und Trimethylsilyltrifluormethansulfonat-katalysierte Reaktionen wurden auf ihre Eignung hin untersucht, die monosaccharidischen Bausteine miteinander zu verknüpfen. Das Azid-Verfahren wurde nicht weiter verfolgt.

2.3.1 Umsetzungen mit Trimethylsilyltrifluormethansulfonat

Beim Umsatz von 2',2',2'-Trichlorethyl-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosid (42) mit Verbindung 54b unter Trimethylsilyltrifluormethansulfonat-Katalyse wurden nach 24 Stunden Reaktionszeit zwei Produkte isoliert, bei der gleichen Reaktion mit dem Oxazolin 52 und Trimethylsilyltrifluormethansulfonat nach der Hälfte der Zeit sogar drei. Es handelte sich hierbei um die drei möglichen Trimethylsilylether von 42, wobei nicht zwischen der in 2- und der in 3-Position silylierten Verbindung unterschieden werden konnte (Abb. 20).

Nach *Paulsen und Paal* sind die Silylierungsprodukte nur unter basischen Bedingungen stabil und reagieren dann nicht in der gewünschten Weise ab²⁷⁾. Unter den normalen schwach sauren Bedingungen sollten diese Silylierungsprodukte als eigentlicher Akzeptor unter Trifluormethansulfonsäure-Katalyse mit dem Donator zum Disaccharid reagieren. Überschüssige Säure soll durch das zugesetzte Molekularsieb abgefangen werden.



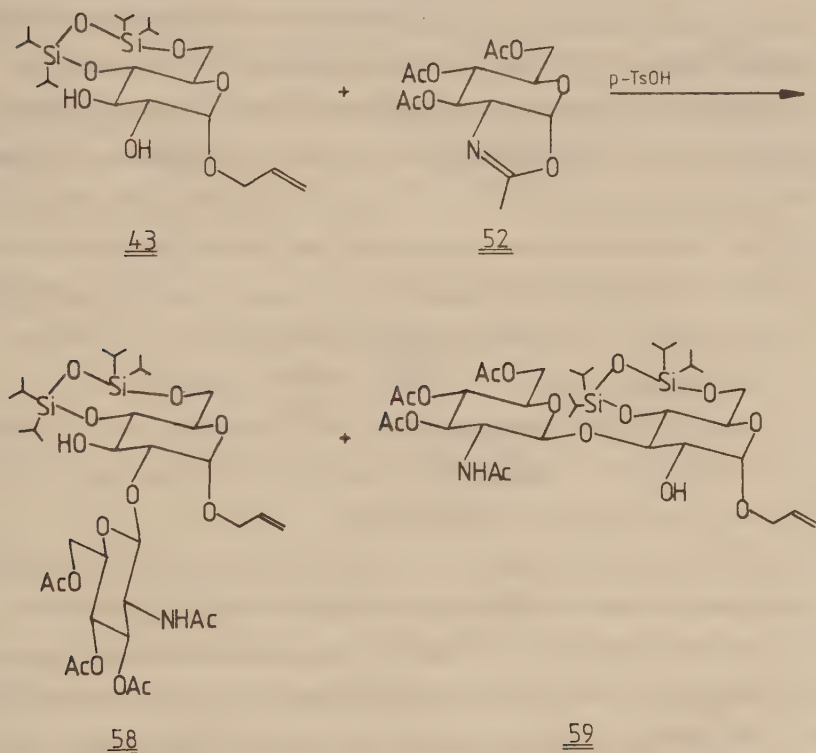
Aufgrund der hier zunächst aufgetretenen Schwierigkeiten und der Tatsache, daß nach dem Oxazolin-Verfahren das (B1-2)-verknüpfte Disaccharid erhalten werden konnte, wurde dieser Weg nicht weiter verfolgt.

2.3.2 Umsetzungen nach dem Oxazolin-Verfahren

Mit Hilfe des Oxazolin-Verfahrens konnte das gewünschte Disaccharid hergestellt werden. Hierbei wurden der Glucosylakzeptor 43 und das Oxazolin 52 in Nitromethan/Toluol bei er-

höher Temperatur mit p-Toluolsulfonsäure als Katalysator umgesetzt⁸⁴⁾. Dabei konnte sowohl das (β1+2)-verknüpfte Disaccharid 58 in 46proz. Ausbeute als auch das (β1+3)-verknüpfte Disaccharid 59 in 25proz. Ausbeute isoliert werden. Die Glucosidierung in 2-Position war also bevorzugt (Abb. 21).

Abb. 21



Die Reaktion wurde so durchgeführt, daß dem Reaktionsgemisch während der gesamten Reaktionsdauer noch zweimal Oxazolin und einmal p-Toluolsulfonsäure zugesetzt wurde. Der Abbruch der

Reaktion erfolgte vor dem 100proz. Umsatz durch Zusatz von Pyridin, da sonst zu viele Nebenprodukte aus der Zersetzung des Oxazolins 52 die Isolierung der gewünschten Disaccharide erschwerten. Die entstandenen Verbindungen 58 und 59 waren gegenüber p-Toluolsulfonsäure in Nitromethan/Toluol bei 70°C über zwei Tage stabil.

Die Strukturaufklärung der beiden Disaccharide 58 und 59 gelang mit Hilfe der ein- und zweidimensionalen NMR-Spektroskopie (^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-, DEPT-Spektrum; ^1H - ^1H - und ^1H - ^{13}C -Korrelation). Nach der Zuordnung sämtlicher Signale (siehe Tabellen 4 und 5) leitete sich die Strukturzuordnung von folgenden Punkten ab:

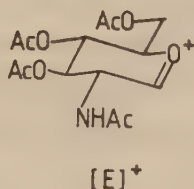
1. Die β -glucosidische Verknüpfung der beiden Monosaccharide, die aufgrund der Reaktionsführung erwartet wurde, bestätigte sich durch die Lage der Resonanzsignale der C-1-Atome im ^{13}C -NMR-Spektrum ($\delta = 101.98$ für Verbindung 58 und $\delta = 101.92$ für Verbindung 59) und durch die Größe der Kopplungskonstante der anomeren Protonen im ^1H -NMR-Spektrum ($J_{1,2} = 8.5$ Hz in beiden Disacchariden).
2. Im ^{13}C -NMR-Spektrum erfährt das Signal eines Kohlenstoffatoms, an dem eine Alkoxygruppe gebunden ist, eine Tieffeldverschiebung von ca. 10 ppm im Vergleich zum Signal des Kohlenstoffatoms mit freier Hydroxylgruppe. Ein Vergleich der ^{13}C -NMR-Spektren des Eduktes 43 mit den Produkten 58 und 59 zeigte, daß in Verbindung 58 das Resonanzsignal des C-2-Atoms und in Verbindung 59 das Resonanzsignal des C-3-Atoms des silylierten Zuckers eine solche Tieffeldverschiebung erfahren haben.

3. Im COSY-Spektrum der Verbindung 58 konnte ein Crosspeak für die Kopplung des hydroxylichen Protons mit 3-H und im COSY-Spektrum der Verbindung 59 ein Crosspeak für die Kopplung des hydroxylichen Protons mit 2-H gefunden werden.

Beim Produkt 58 handelte es sich damit eindeutig um das gewünschte (ß1-2)-glucosidisch verknüpfte Disaccharid, während es sich beim Produkt 59 um das unerwünschte (ß1-3)-glucosidisch verknüpfte Disaccharid handelte.

Die beiden Disaccharide zeigten, wie auch alle anderen disaccharidischen Verbindungen, im Massenspektrum einen Peak bei $m/z = 330$ ($[E]^+$, Abb. 22), der aus dem acetylierten Glucosaminteil stammt.

Abb. 22



Es bleibt weiter festzustellen, daß die Disiloxanschutzgruppe die Reaktivität der Hydroxylgruppen an C-2 und C-3 umkehrt. Im Gegensatz zu dem Beispiel bei *van Boeckel und van Boom* (Abb. 11)⁶³⁾ entstand bei der hier beschriebenen Reaktion jedoch nicht nur das (ß1-2)-glycosidisch verknüpfte Disaccharid sondern auch das (ß1-3)-glycosidisch verknüpfte. Die 3-Position war also durch sterische Hinderung nicht so weit abgeschirmt, daß sie nicht mehr angegriffen werden konnte.

2.4 Funktionalisierung des Disaccharids 58

2.4.1 Einführung der Carbamoylgruppe

Zur Einführung der Carbamoylgruppe in das Disaccharid 58 wurde das aus der ^1H -NMR-Spektroskopie bekannte, sehr reaktive Trichloracetylisocyanat verwendet. Die Reaktivität der Alkohole⁸⁵⁾ fällt in der Reihenfolge

prim.- > sek.- > tert.- > phenol.-OH.

Im ^1H -NMR-Spektrum beobachtet man das NH-Signal der Trichloracetylcarbamoylgruppe im Bereich von $\delta = 8-13$. Da dieses Signal im allgemeinen breit ist und daher oft nur schwierig zu erkennen ist, kann die Gruppe besser durch ein IR-Spektrum der Verbindung nachgewiesen werden. Man beobachtet die Valenzschwingung des Trichloracetylrestes bei 1800 cm^{-1} .

Der durch Trichloracetylisocyanat verursachte "Acylation Shift" beträgt für geminale tertiäre Protonen 1.0 bis 1.2 ppm und für geminale sekundäre Protonen 0.5 bis 0.8 ppm. Er ist vom Lösungsmittel abhängig⁸⁵⁾.

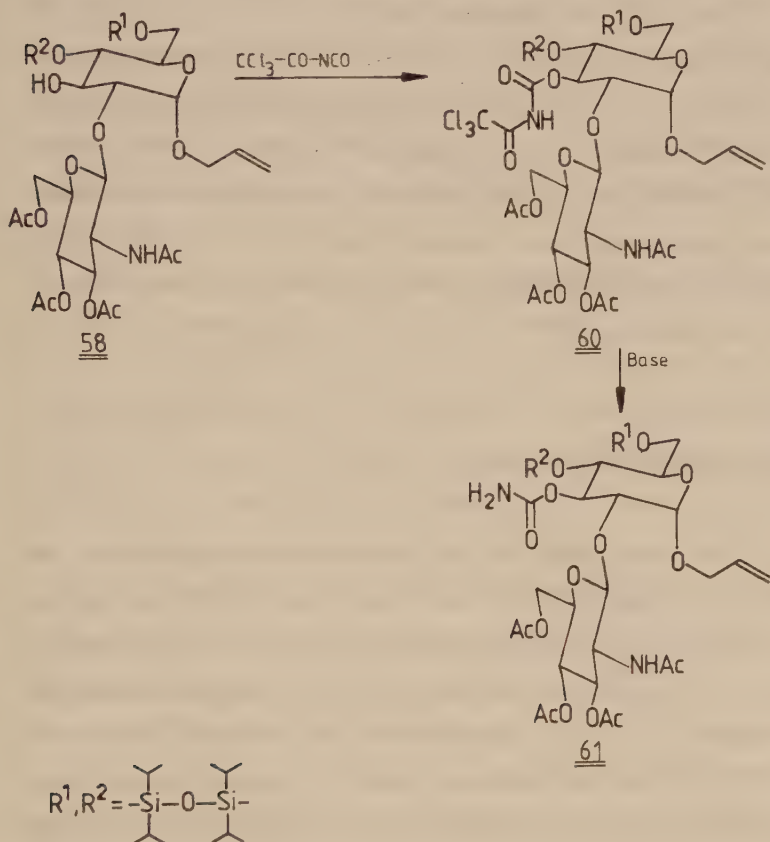
Die Abspaltung der Trichloracetylgruppe mit wässriger Base ist leicht möglich⁸⁶⁾.

Durch Reaktion des Disaccharids 58 mit Trichloracetylisocyanat bei 0°C konnte Verbindung 60 nahezu quantitativ erhalten werden (Abb. 23). Nach säulenchromatographischer Reinigung für die spektroskopische Charakterisierung konnte 60 jedoch nur in 41proz. Ausbeute rein isoliert werden.

Die Abspaltung der Trichloracetylgruppe erfolgte in einem Zweiphasensystem aus Dichlormethan, Wasser und Methanol. Als Base wurde 5proz. wässrige Kaliumcarbonatlösung verwendet. Nach

fünftägigem kräftigem Rühren bei Raumtemperatur konnte Verbindung 61 in 70proz. Ausbeute erhalten werden (Abb. 23).

Abb. 23



Bei der Durchführung dieser Reaktion in homogener Phase mit Methanol als Lösungsmittel und 5proz. wässriger Kaliumcarbonatlösung als Base wurde bereits innerhalb von vier Stunden Zersetzung beobachtet. Auch der Umsatz im Zweiphasen-System, jedoch mit gesättigter wässriger Kaliumcarbonatlösung, führte

zu Zersetzungsprodukten.

In absolutem Tetrahydrofuran mit absolutem Ethyl-diisopropylamin als Base verläuft die Abspaltung der Trichloracetylgruppe langsamer als mit 5proz. wässriger Kaliumcarbonatlösung. An Luft findet langsame Zersetzung statt.

Verbindung 61 konnte auch in einer Eintopfreaktion aus 58 erhalten werden. Dazu wurde das Disaccharid 58 mit Trichloracetylisocyanat umgesetzt. Nach beendeter Reaktion wurde nicht umgesetztes Reagenz mit einem Überschuß an Methanol abgefangen. Dann wurde 5proz. wässrige Kaliumcarbonatlösung zugesetzt. Nach zehntägigem kräftigem Rühren konnte Verbindung 61 in 79proz. Ausbeute isoliert werden.

2.4.2 Abspaltung der Allylgruppe

Aufgrund der Basenlabilität der Trichloracetylgruppe und der Silylschutzgruppe und der Säurelabilität der glycosidischen Bindung sowie der Silylschutzgruppe entfallen zur Abspaltung der Allylgruppe alle jene Verfahren, die mit starken Basen oder Säuren arbeiten. Aus der Vielzahl der Möglichkeiten verbleiben nur die Verfahren mit Rhodium- oder Iridiumkatalysator und Quecksilber-(II)-oxid/Quecksilber-(II)-chlorid bzw. Jod oder mit Palladium-(II)-chlorid.

Bei der Isomerisierung der Allylgruppe zur Propenylgruppe mit Tris(triphenylphosphin)rhodium-(I)-chlorid wird vereinzelt Reduktion zur Propylgruppe beobachtet^{57b,87)}. Der Zusatz von 1,4-Diazobicyclo[2.2.2]octan verhindert eine vorzeitige Hydrolyse des Propenylethers. Diese Hydrolyse führt zu Propanal,

welches mit dem Katalysator zu dem weniger reaktiven Carbonylbis(triphenylphosphin)rhodium-(I)-chlorid reagiert⁵⁶⁾.

Bei der Umsetzung des Disaccharids 60 mit Wilkinson-Katalysator und 1,4-Diazobicyclo[2.2.2]octan in 90proz. siedendem Ethanol wurde dünnschichtchromatographisch die Verbindung 61 identifiziert (Abb. 23). Daneben entstanden eine Reihe weiterer Produkte, die nicht näher untersucht wurden. Zumindest in Gegenwart der Trichloracetylgruppe sind diese Bedingungen zu basisch, so daß auf den Wilkinson-Katalysator nicht zurückgegriffen wurde.

Die Reduktion der Allylgruppe wird beim Iridium-Katalysator nicht beobachtet. Weiter ist bekannt, daß er die empfindliche 1,1,3,3-Tetraisopropyl-disiloxan-1,3-diyl-Schutzgruppe nicht angreift und auch in Gegenwart von Phosphorsäuretriestern verwendet werden kann (Beim Wilkinson-Katalysator beobachtet man Abbau zum Phosphorsäurediester.)^{57b)}.

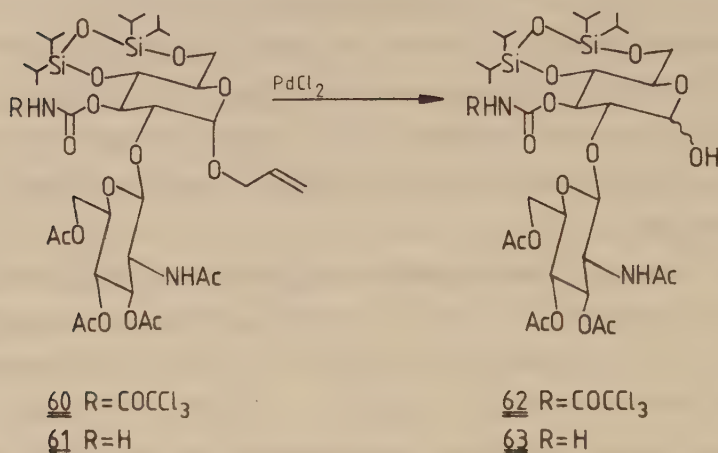
Der Iridium-Katalysator ist käuflich noch nicht zu erwerben. Die Darstellung des Komplexes ist mit hohen Kosten und großem Arbeitsaufwand verbunden. Hier steht mit Palladium-(II)-chlorid eine Alternative zur Verfügung.

Die Reaktion mit Palladium-(II)-chlorid wird in einem Gemisch aus Eisessig, Wasser und Natriumacetat durchgeführt⁶¹⁾. Dieses Gemisch besitzt einen pH-Wert, bei dem die Disaccharide 60 und 61 stabil waren. Ausbeute und Reaktionszeit hingen von der Natriumacetatkonzentration ab.

Die Abspaltung der Allylgruppe im Disaccharid 60 ergab in 1 M Natriumacetatlösung in 50 Stunden das Disaccharid 62 in 47proz. Ausbeute und in 0.1 M Natriumacetatlösung in neun Stunden das Disaccharid 62 in 71proz. Ausbeute. Disaccharid 63

konnte ausgehend von 61 in 0.1 M Natriumacetatlösung in 24 Stunden in 71proz. Ausbeute isoliert werden (Abb. 24).

Abb. 24



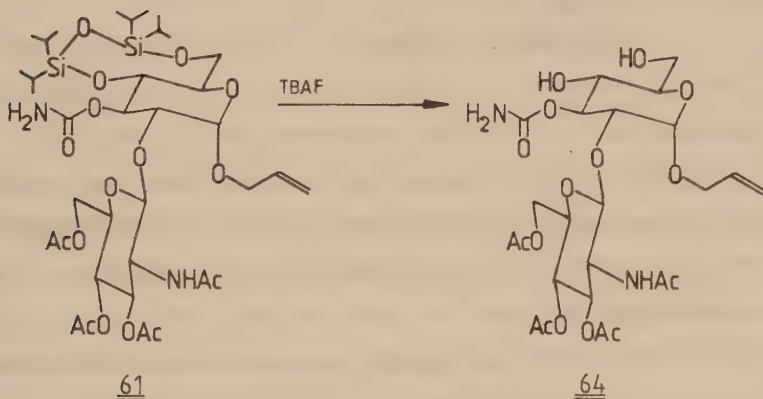
2.4.3 Abspaltung der Silylgruppe

Die einfachste Möglichkeit, Silylgruppen abzuspalten, besteht in der Umsetzung des Silylethers mit Tetra-n-butylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran. Es ist jedoch bekannt, daß hierbei Acylgruppenwanderung auftritt^{88,89)}. Der Versuch, dies durch Zusatz von Schwefelsäure als Protonendonator zu unterdrücken, führt zum Abbruch der Reaktion⁸⁹⁾. Mit Pyridiniumchlorid als Protonendonator konnte die Wanderung von Estergruppen⁹⁰⁾ – auch von Phosphoestern⁶⁴⁾ – unterdrückt werden.

Um die Neigung der Carbamoylgruppe zur Wanderung unter den gewählten Reaktionsbedingungen auszutesten, wurde das Disaccha-

rid 61 mit Tetra-n-butyl-ammoniumfluorid in Tetrahydrofuran bei Raumtemperatur umgesetzt. Die desilylierte Verbindung 64 wurde dabei in 82prozent. Ausbeute isoliert (Abb. 25). Eine Wanderung der Carbamoylgruppe konnte dabei ^1H -NMR-spektroskopisch nicht beobachtet werden. Im Vergleich zum Disaccharid 58 wurde im ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 64 die durch die Carbamoylgruppe bedingte Tieffeldverschiebung für 3-H beobachtet. Bei einer Wanderung der Gruppe müßte die Tieffeldverschiebung für 4-H beobachtet werden; 4-H blieb jedoch unverändert (siehe Tabelle 6).

Abb. 25



Eine selektive Desilylierung, wie sie von *Markiewicz* beschrieben wird^{67,68}, erscheint dann interessant, wenn an der 4- oder 6-Position noch selektiv Reaktionen durchgeführt werden sollen. In der vorliegenden Synthese wäre dies die Oxidation zur Carbonsäure und/oder die Einführung der 4-C-Methylgruppe.

2.5 Phosphorylierungen nach dem Phosphitester-Verfahren

2.5.1 Wahl des Phosphitylierungsmittels

Es ist schon länger bekannt, daß Aldose-1-phosphate, β -konfigurierte mehr als α -konfigurierte, empfindlich gegenüber Säuren sind⁹²⁾. Als ausgesprochen labil erwiesen sich Phosphorsäuretriestere von Aldose-1-phosphaten. Die entsprechenden Diester waren dagegen stabiler. Erklärt wurde dies mit den pK_a -Werten. Diese Werte deuten daraufhin, daß der zum Phosphorsäuretriestere korrespondierende Diester eine gute Austrittsgruppe darstellt, während der zum Diester korrespondierende Phosphorsäuremonoester eine schlechte Austrittsgruppe ist⁹³⁾.

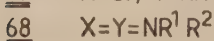
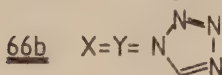
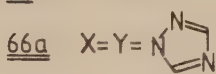
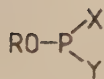
Das für die Phosphorylierung der Verbindungen 63 und 19 auszuwählende Phosphorylierungsmittel sollte folgende Bedingungen erfüllen:

- Es sollte selektiv reagieren und kein symmetrisches Produkt durch Abreaktion des zunächst gebildeten, zur Weiterreaktion befähigten, phosphorylierten Saccharids mit noch nicht umgesetztem 63 bilden.
- Die entstehenden Phosphorigsäure- und Phosphorsäuretriestere sollten relativ stabil sein.
- Die Schutzgruppe am Phosphor sollte selektiv und unter milden, nicht sauren Bedingungen abspaltbar sein.

Das Phosphitester-Verfahren wurde 1975 von *Letsinger et al.* eingeführt⁹⁴⁾. Mit diesem Verfahren konnte gegenüber den herkömmlichen Methoden (Phosphodiester- und Phosphotriester-Verfahren) die Reaktionszeit für die Darstellung von Oligonucleotiden erheblich verkürzt werden^{32b)}.

Als Reagenzien wurden Alkyldichlorphosphite (65, Abb. 26)⁹⁵⁾ eingesetzt. Eine Verbesserung wurde durch den Einsatz von Ditriazoliden (66a) und Ditetrazoliden (66b, Abb. 26)³³⁾, Phosphoramiditen (67, Abb. 26)³⁴⁾ und Phosphordiamiditen (68, Abb. 26)³⁶⁾ erreicht.

Abb. 26

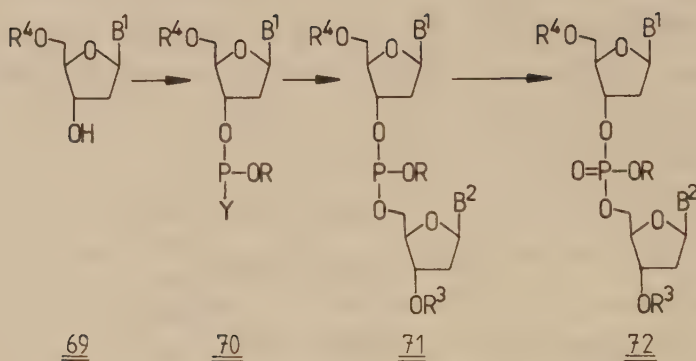


Inzwischen ist eine große Anzahl von Kombinationen verschiedener Alkylreste mit den Gruppen X und Y der Phosphitylierungsmittel 65 bis 68 bekannt^{35,52,96)}. Diese Reagenzien wurden entwickelt, um in der Oligonucleotidchemie die bestmöglichen Stabilitäten und Reaktivitäten in Lösung und insbesondere an fester Phase zu erreichen. Einige Aspekte dieser Reagenzien seien hier kurz diskutiert⁹⁷⁾.

Üblicherweise setzt man das Phosphitylierungsmittel im ersten Schritt mit der sekundären Hydroxylgruppe eines Nucleosides und im zweiten mit der primären Hydroxylgruppe eines anderen Nucleosides um (Abb. 27). Hierbei zeigt es sich, daß Phosphordichloridite (65) reaktiver als die entsprechenden Monochloridite (70, $\text{Y} = \text{Cl}$) sind. Vor der Umsetzung der Verbindung 70 zu 71 muß daher das Phosphitylierungsmittel 65 entfernt

werden⁹⁷⁾.

Abb. 27



nach Letsinger et al.⁹⁷⁾

Bei der Reaktion mit dem Nucleosid 69 verhält sich Verbindung 65 ($R = \text{CH}_3$) 'wenig selektiv'. Es bildet sich Verbindung 70 ($R = \text{Me}$, $Y = \text{Cl}$), die noch so reaktiv ist, daß sie sowohl mit einer primären als auch mit einer sekundären Hydroxylgruppe reagiert. Daher erhält man neben der gewünschten Verbindung 70 symmetrisch 3'-3'-verknüpftes Produkt und nicht umgesetztes 65. Der Ersatz eines Chlorsubstituenten durch eine Aminogruppe (67, $R = \text{CH}_3$) führt zu einem selektiv reagierenden Phosphitylierungsmittel. Das Produkt 70 ($R = \text{CH}_3$, $Y = \text{NR}^1\text{R}^2$) ist relativ unreaktiv; es wird jedoch durch heterocyclische Verbindungen wie Tetrazol stark aktiviert⁹⁷⁾. Neben Tetrazol fanden auch andere Heterocyclen Verwendung^{96b,98)}. Neuere Arbeiten belegen, daß das Tetrazol bei der Aktivierung der Verbindung 70 ($R = \text{NR}^1\text{R}^2$) nicht nur als Säure, sondern auch als Nucleophil wirkt.

Dabei wird die Bildung eines Tetrazolids 70 ($Y = \text{CHN}_4$) als reaktive Spezies diskutiert⁹⁹⁾. Dieses Tetrazolid bedarf keiner weiteren Aktivierung zur Darstellung von 71¹⁰⁰⁾.

Für die Umsetzung des Nucleosids 69 mit den Phosphitylierungsmitteln 68 bedarf es ebenfalls einer Aktivierung durch heterocyclische Verbindungen. Inwieweit die Nucleophilie des Aktivators hier eine Rolle spielt, ist noch nicht grundsätzlich geklärt. Diskutiert wurde bisher die Wirkung als Säure^{101a)}.

Die Aktivierung durch heterocyclische Verbindungen bei der Umsetzung des Nucleosids 69 mit den Phosphitylierungsmitteln 66a und 66b ist dagegen auf die Wirkung als Säure zurückzuführen^{101b)}.

Andererseits kann die Selektivität dadurch gesteigert werden, daß man größere Alkylreste in Verbindung 65 einführt. So ergibt der Übergang von $R = \text{CH}_3$ (wenig selektiv) über $R = \text{CH}_2\text{CCl}_3$ (mäßig selektiv) nach $R = \text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CCl}_3$ ein selektives Phosphitylierungsmittel (NMR-spektroskopischer Nachweis). Die sterische Hinderung, die die größere Selektivität bewirkt, bedingt auch eine größere Stabilität der Produkte 70 ($Y = \text{Cl}$), 71 und 72^{97,102)}. In einer anderen Versuchsreihe wurde beim Übergang zu größeren Alkylresten ebenfalls eine verminderte Reaktivität beobachtet⁹⁹⁾.

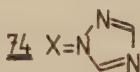
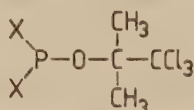
Aufgrund ihrer Feuchtigkeitsempfindlichkeit sind Verbindungen vom Typ 70 ($Y = \text{Cl}$) schwieriger zu handhaben als die entsprechenden Amidite (70, $Y = \text{NR}^1\text{R}^2$); dafür sind sie aber kostengünstiger in der Herstellung⁹⁷⁾.

Ersetzt man in der Verbindung 65 ($R = \text{CH}_3$) die Chlorsubstituenten durch Triazol- oder Tetrazolgruppen, so beobachtet man eine gesteigerte Selektivität, die zu einer Verminderung

der Bildung von symmetrisch 3'-3'-verknüpften Dinucleotiden und zu einer Erhöhung der Ausbeute an 3'-5'-verknüpften Produkten führt³³⁾. Diese Selektivitätssteigerung wurde auch für $R = C(CH_3)_2CCl_3$ beobachtet¹⁰²⁾.

Aufgrund der größeren Stabilität der Zwischenprodukte, der hohen Selektivität und einer verbesserten Darstellungsmethode für Verbindung 73 (Abb. 28)¹⁰²⁾ wurde das Ditriazolid 74 (Abb. 28) als Phosphitylierungsmittel gewählt.

Abb. 28



74 erfüllt auch die Bedingung, eine selektiv abspaltbare Schutzgruppe zu besitzen. β -Halogenierte Alkylreste lassen sich im allgemeinen leicht reduktiv abspalten. Als Reduktionsmittel eignen sich Zinkpulver oder Zink-Kupfer-Paar^{53,54)}, Vitamin B₁₂, Vitamin B₁₂-Modellverbindungen bzw. Cobalt-(I)-phthalocyanin-Anion¹⁰³⁾, Tri-n-butylphosphin in N,N-Dimethylformamid/Triethylamin^{97,104)} oder elektrochemische Verfahren¹⁰⁵⁾.

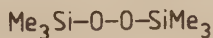
Die Herstellung von 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlorphosphit (73, Abb. 28) erfolgte durch Umsetzung von 2-Trichlormethyl-2-propanol mit einem Überschuß Phosphortrichlorid in Pentan unter Zugabe von Pyridin¹⁰²⁾ in 48proz. Ausbeute. Das Ditriazolid 74 wurde dann jeweils in situ hergestellt^{33,102)}. Für die Reduktion wurden Zink-Kupfer-Paar und Tri-n-butylamin verwendet. Co-(I)-phthalocyanin-Anionen wurden aufgrund ihrer extremen Sauerstoffempfindlichkeit nicht gewählt¹⁰⁶⁾.

2.5.2 Oxidation von Trialkylphosphiten zu Trialkylphosphaten

Ein weiteres Problem bei der Phosphorylierung stellt die Oxidation von Trialkylphosphiten zu Trialkylphosphaten dar. In der Oligonucleotidchemie wird fast ausschließlich ein Gemisch aus Jod und Wasser benutzt^{35a,107)}. Dieses Oxidationsmittel erwies sich jedoch für die Oxidation von Aldose-1-phosphiten als ungeeignet¹⁰⁸⁾ (vermutlich aufgrund der Instabilität des Phosphits). Daneben sind eine ganze Reihe anderer Oxidationsmittel getestet worden¹⁰⁹⁾. Bei der Herstellung von Aldose-1-phosphaten aus den entsprechenden Phosphiten wurden bisher allerdings nur tert-Butylhydroperoxid⁵¹⁾ und Sauerstoff in Kombination mit dem Radikalstarter Azoisobuttersäurenitril (AIBN)⁵⁰⁾ angewendet.

Ein sehr mildes Oxidationsmittel ist auch Bis(trimethylsilyl)peroxid (75, Abb. 29)^{107,110)}. Im Gegensatz zu dem System Sauerstoff/AIBN, das das Phosphit radikalisch zum Phosphat oxidiert¹¹¹⁾, oxidiert 75 das Phosphit über eine ionische Zwischenstufe¹¹²⁾.

Abb. 29



75

Im gestellten Problem sollte die Oxidation mit Sauerstoff/AIBN und 75 untersucht werden.

Bis(trimethylsilyl)peroxid (75) ist in seiner Stabilität und Hydrolysebeständigkeit in etwa dem Di-tert-Butylperoxid vergleichbar¹¹³⁾. Merkliche thermische Zersetzung setzt bei

Normaldruck erst oberhalb 100°C ein¹¹⁴⁾; *Buncel und Davies* beobachteten jedoch unter vermindertem Druck auch explosionsartige Zersetzung beim Destillieren (vermutlich ausgelöst durch die Anwesenheit von Trimethylsilylhydroperoxid)¹¹⁵⁾.

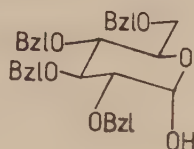
Die Herstellung von 75 erfolgt durch Umsatz von Trimethylsilylchlorid mit wasserfreiem Wasserstoffperoxid und Pyridin als Säureakzeptor¹¹⁴⁾. Gefahrloseres Arbeiten ist beim Einsatz eines 1:2-Adduktes aus 1,4-Diazobicyclo[2.2.2]octan und Wasserstoffperoxid anstelle von wasserfreiem Wasserstoffperoxid möglich. Dieses Addukt - es wird aus Wasserstoffperoxidlösungen mit einem Gehalt von $\geq$ 30 Prozent Wasserstoffperoxid gewonnen - kann bei Raumtemperatur mehrere Monate gelagert werden. Es ist hygroskopisch und zersetzt sich bei Temperaturen oberhalb von 60°C¹¹⁶⁾. Durch Umsatz von Trimethylsilylchlorid mit dem 1,4-Diazobicyclo[2.2.2]octan/Wasserstoffperoxid-Addukt unter Zusatz von 1,4-Diazobicyclo[2.2.2]octan als Protonenakzeptor erhält man dann das Peroxid 75¹¹⁷⁾. Dieses Verfahren wurde auch in dieser Synthese angewendet.

2.5.3 Phosphorylierungsreaktionen

Phosphitylierungs-, Oxidations- und Reduktionsbedingungen wurden zunächst an einem Modellsystem untersucht. Als Zuckerkomponente diente in allen Fällen 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranose (76, Abb. 30)¹¹⁸⁾. Als Phosphitylierungsmittel wurde 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlorphosphit (73), als zweite Alkoholkomponente Neopentylalkohol (79) und der Alkohol 19¹²⁰⁾, als Oxidationsmittel Sauerstoff/AIBN und Bis(trimethyl-

silyl)peroxid (75) und als Reduktionsmittel Zink-Kupfer-Paar und Tri-n-butylphosphin eingesetzt.

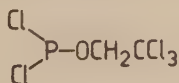
Abb. 30



76

Bei der Phosphorylierung von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranose (76) mit 2,2,2-Trichlorethyl-dichlorphosphit (77, Abb. 31) mußten auf der Phosphorigsäuretriesterstufe durch säulenchromatographische Reinigung Salze entfernt werden, bevor die Oxidation zum Phosphorsäuretriester mittels Sauerstoff/AIBN erfolgen konnte¹²¹⁾. Bei allen säulenchromatographischen Trennungen mußte dem Laufmittel Triethylamin zugesetzt werden, um eine Spaltung der Phosphorsäuretriestergruppen am Kieselgel zu unterdrücken. Trotz dieser Vorsichtsmaßnahme konnte die Rückbildung von 76 nie ganz verhindert werden.

Abb. 31



77

Ferner zeigte sich in diesen Versuchen, daß Spuren von Feuchtigkeit bei der Reduktion mit Zink-Kupfer-Paar zu einer Spaltung der Bindung zwischen Zuckerteil und Phosphatrest füh-

ren.

Im ^1H -NMR-Spektrum bedingt der Phosphatrest eine Tieffeldverschiebung des Signals der anomeren Protonen. Außerdem führt die Kopplung zum Phosphor ($|^3J_{\text{P,H}}| = 6-8 \text{ Hz}$) zu einer weiteren Aufspaltung dieses Signals. Bei einer entsprechenden Auflösung kann im ^{13}C -NMR-Spektrum auch die Kohlenstoff-Phosphor-Kopplung über zwei und drei Bindungen beobachtet werden ($J = 5-9 \text{ Hz}$).

2.5.3.1 Phosphorylierung von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranose mit dem Phosphitylierungsmittel 74

Die Umsetzungen mit dem Phosphitylierungsmittel 74 wurden nach *Stöcklein-Schneiderwind und Ugi* durchgeführt¹⁰²). Der Zucker 76 in Tetrahydrofuran wurde bei 0°C zu dem Ditriazolid 74 getropft. Nach zweistündigem Rühren wurde bei 0°C eine Lösung von Neopentylalkohol (79) in Tetrahydrofuran zugegeben. Der so erhaltene Phosphorigsäuretriester 82 wurde durch eine Filtriersäule grob gereinigt und mit Sauerstoff unter AIBN-Katalyse zum Phosphorsäuretriester 80 in 64proz. Gesamtausbeute oxidiert (Abb. 32).

Interessanterweise konnte hier auch das unerwünschte, instabilere β -Phosphat 80b isoliert werden. ^1H -NMR-spektroskopisch erwies sich das α -Phosphat 80a als ein Gemisch der am Phosphor diastereomeren Phosphate. Besonders deutlich zu erkennen war dies an der Verdopplung der Signale für die Methylgruppen und das anomere Proton.

Der Diester 84 (Abb. 32) wurde durch Reduktion der 2-Tri-chlormethyl-2-propylgruppe mit Tri-n-butylphosphin in N,N-Dime-

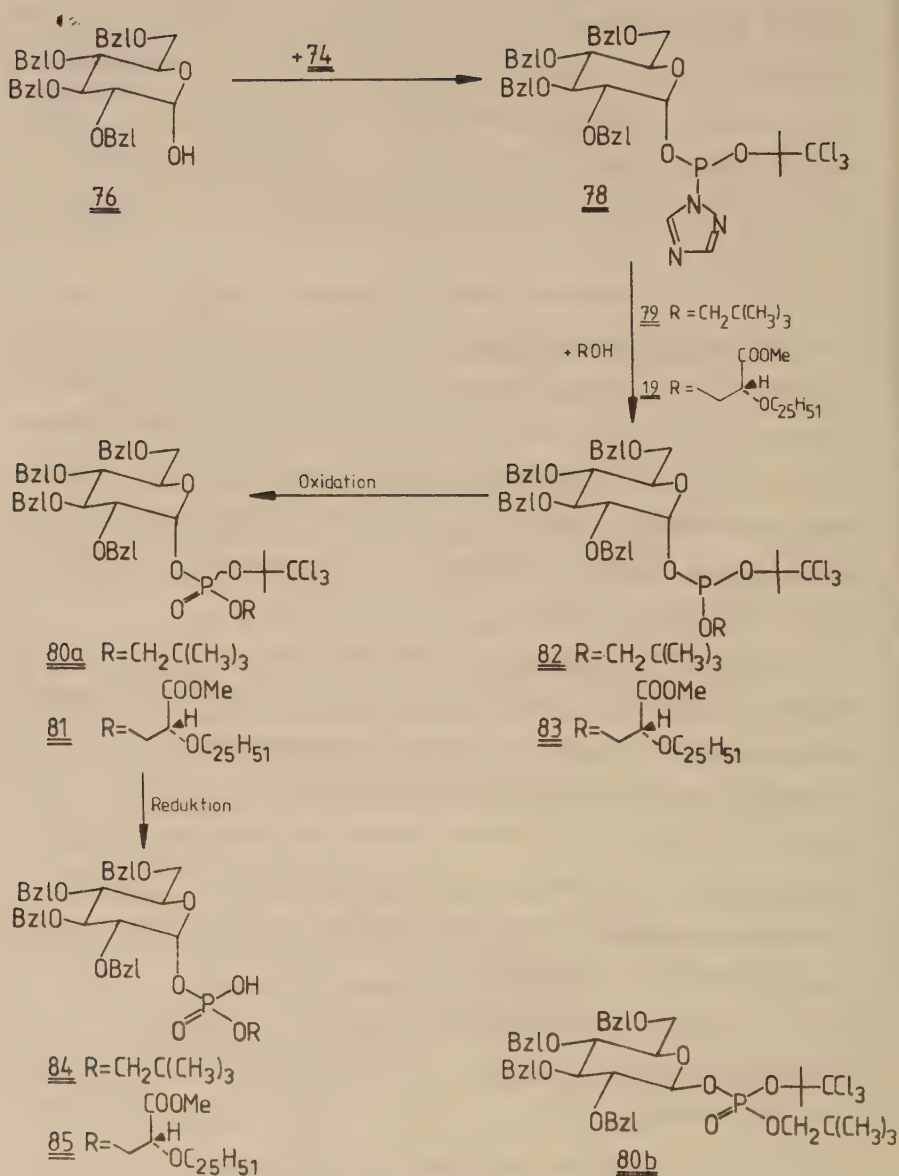
thylformamid/Triethylamin in 90proz. Ausbeute erhalten.

Das Phosphit 83 aus der Umsetzung von 76 mit 74 und dem Alkohol 19 wurde sowohl mit Sauerstoff/AIBN in Benzol bei 70°C als auch mit Bis(trimethylsilyl)peroxid in Dichlormethan bei 0°C oxidiert. In beiden Fällen wurde anschließend mit Tri-n-butylphosphin reduziert (Abb. 32). In diesen Experimenten erwiesen sich die beiden Oxidationsverfahren, was die Ausbeute an 85 betrifft, als gleich effizient.

Der Phosphorsäuretriester 81 konnte chromatographisch in die beiden am Phosphor diastereomeren α -Phosphate aufgetrennt werden. Beide Stereoisomere ergaben nach Reduktion denselben Diester 85, wie dünnschichtchromatographisch (Essigester/Methanol 5:1) nachgewiesen werden konnte. Es gelang jedoch nicht, die beiden Verbindungen ohne Zersetzung (vermutlich Spaltung der Bindung zwischen Zuckerteil und Phosphatrest) spektroskopisch zu charakterisieren.

Bei der Oxidation konnte zwischen Sauerstoff und Bis(trimethylsilyl)peroxid kein Unterschied bezüglich Reaktionsdauer oder Ausbeute festgestellt werden. Aufgrund der milderer Reaktionsbedingungen wurde bei späteren Oxidationen jedoch Bis(trimethylsilyl)peroxid bevorzugt. Wurde die Reduktion mit Tri-n-butylphosphin durchgeführt, war die Reinigung der gewonnenen Diester schwieriger. Deshalb wurde bei späteren Reaktionen auf Zink-Kupfer-Paar zurückgegriffen.

Die Verbindungen 84 und 85 sind durch ihre ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren sowie durch ihre FAB-Massenspektren eindeutig charakterisiert.



2.5.3.2 Phosphorylierung des Disaccharids 63 mit dem Phosphitylierungsmittel 74

Nachdem sich das Ditriazolid 74 bei der Phosphorylierung der 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranose (76) als geeignetes Reagenz erwiesen hatte, stellten sich für die Phosphorylierung des Disaccharids 63 nunmehr folgende Fragen:

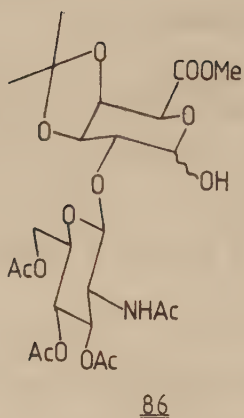
1. Geht die Amino-Funktion der Carbamoylgruppe eine Reaktion mit dem Phosphitylierungsmittel ein?

Sollte die Amino-Funktion der Carbamoylgruppe eine Reaktion eingehen, so muß diese Gruppe entweder geschützt werden oder die Carbamoylgruppe muß nach der Phosphorylierung eingeführt werden, wobei die Hydroxylgruppe in der 3-Position dann für die Phosphitylierung wahrscheinlich anderweitig blockiert werden müßte.

2. Geht die 2-Acetamidogruppe des Disaccharids eine Reaktion mit dem Phosphitylierungsmittel ein?

Um den Einfluß der 2-Acetamidogruppe zu testen, wurde die Phosphitylierung an einer Modellsubstanz durchgeführt¹²²⁾. Diese Verbindung 86 (Abb. 33) besteht ebenfalls aus einem (81-2)-glucosidisch verknüpften Disaccharid mit 2-Acetamidogruppe. Sie enthält jedoch keine Carbamoylgruppe und auch sonst in Bezug auf die Phosphorylierungsreaktion keine reaktiven Gruppen.

Die Phosphorylierung von 86 mit dem Ditriazolid 74 führte zu den gewünschten Phosphorylierungsprodukten¹²²⁾.

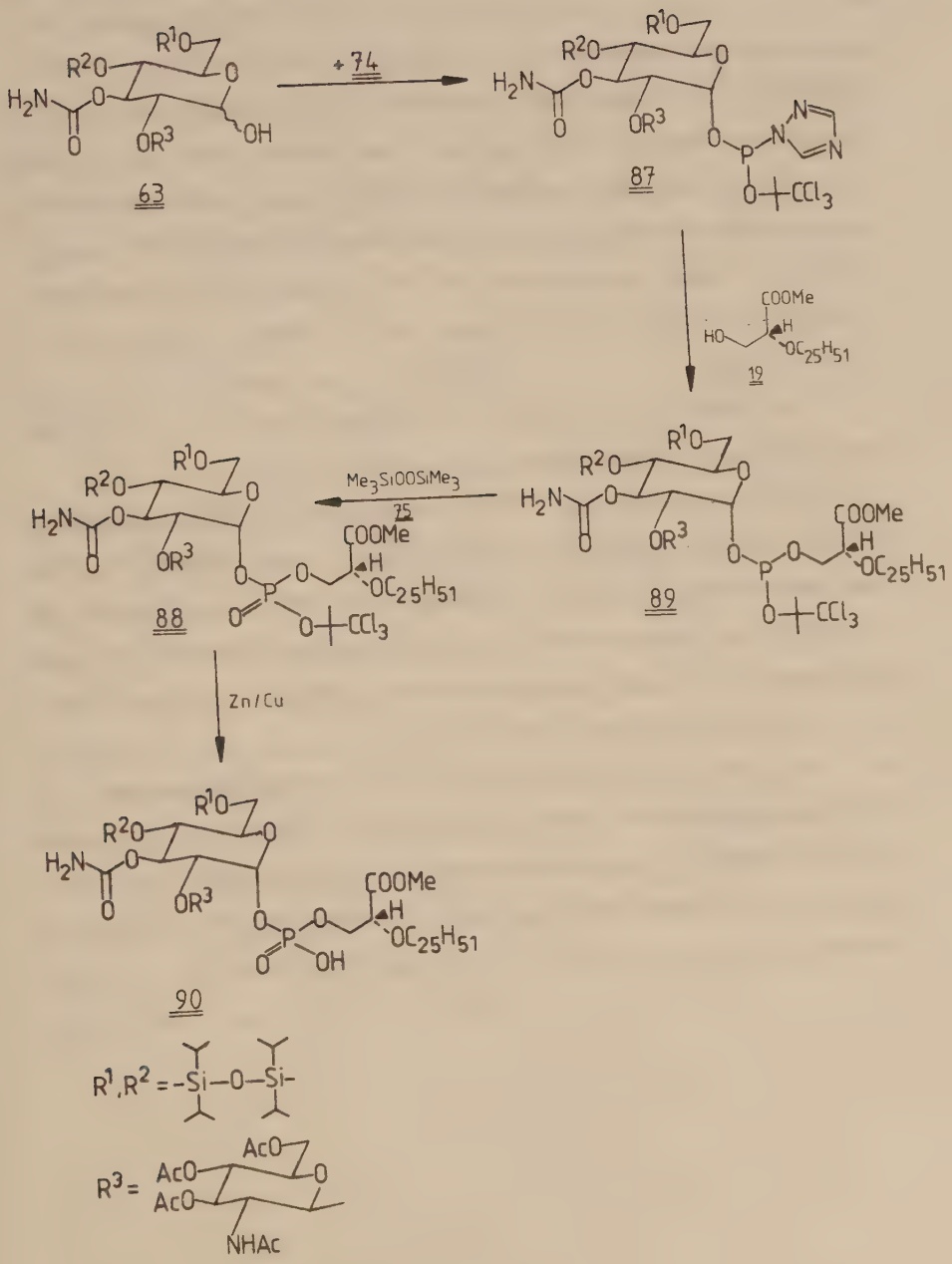


3. Sind die entstehenden phosphorylierten Produkte so stabil, daß die Reaktion dünnschichtchromatographisch verfolgt werden kann und die Produkte isoliert werden können?

Die Phosphorylierung von 86 mit 2,2,2-Trichlorethyl-dichlorphosphit (77) blieb erfolglos, woraus zu schließen ist, daß die hierbei entstehenden Intermediate zu instabil sind¹²²).

Der gewünschte Phosphorigsäuretriester 89 konnte schließlich durch Umsatz des Disaccharids 63 mit dem Ditriazolid 74 und anschließendem Zusatz des Alkohols 19 in Tetrahydrofuran erhalten werden. Oxidation mit Bis(trimethylsilyl)peroxid (75) in Dichlormethan ergab den Triester 88 in 27proz. Ausbeute (Abb. 34).

Abb. 34



Als problematisch erwies sich das Abdampfen des Lösungsmittels (Tetrahydrofuran) vor der Oxidation mit 75. Nach dem Aufnehmen des Rohgemisches in absolutem Dichlormethan konnte dünnenschichtchromatographisch bereits eine größere Menge des Eduktes 63 identifiziert werden. Dies zeigt einmal mehr die Instabilität der entstehenden Zwischenprodukte. Bei der Oxidation mit 75 war eine Reinigung des Phosphits 89 jedoch nicht notwendig. Nach Durchführung der Reaktionssequenz in absolutem Dichlormethan konnte der Triester 88 in 30proz. Ausbeute isoliert werden.

Auch hier trat bei der säulenchromatographischen Reinigung des Triesters 88 Zersetzung ein.

Die Abspaltung der 2-Trichlormethyl-2-propylschutzgruppe mit Zink-Kupfer-Paar unter Zusatz von 2,4-Pentandion in Pyridin bei Raumtemperatur verlief problemlos und ergab den Diester 90 (Abb. 34) in 76proz. Ausbeute. In 27proz. Gesamtausbeute konnte 90 bezogen auf 63 erhalten werden, wenn 88 nur über eine Filtriersäule grob gereinigt wurde.

Die Verdopplung der Signale für die Methylestergruppe im ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 88 deutet auch hier auf das Vorliegen der am Phosphor diastereomeren α -Phosphate hin. Die Struktur der Verbindung 90 ist spektroskopisch eindeutig belegt.

2.6 Abspaltung der Schutzgruppen aus dem Phosphorsäurediester 90

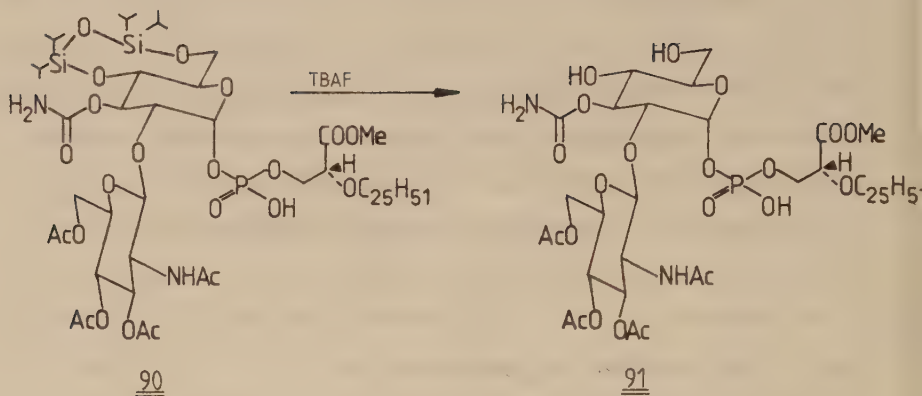
Zur Darstellung der Zielverbindung 15 aus dem Phosphorsäurediester 90 müssen noch zwei Reaktionen durchgeführt werden:

1. Abspaltung der cyclischen Silylschutzgruppe und
2. Hydrolyse der O-Acetylgruppen und der Methylesterfunktion.

2.6.1 Desilylierung der Verbindung 90

Die vollständige Desilylierung sollte mit Tetra-n-butylammoniumfluorid durchgeführt werden⁶⁷⁾. Nachdem zuvor gezeigt worden war (siehe 2.4.4), daß die Carbamoylgruppe, im Gegensatz zur Acylgruppe, nicht zur Wanderung neigt, wurde der Phosphorsäurediester 90 mit TBAF in absolutem Tetrahydrofuran bei Raumtemperatur unter Argon zum desilylierten Produkt 91 (Abb. 35) umgesetzt. Verbindung 91 konnte in 72proz. Ausbeute erhalten werden.

Bei Verbindung 91 muß es sich um zwei sehr ähnliche Produkte handeln, denn das ^{13}C -NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigte für die meisten Kohlenstoffatome ein zweites Signal mit sehr geringen $\Delta\delta$ -Werten. Der Anteil der zweiten Verbindung betrug circa 20 Prozent (nach ^{13}C -NMR-Spektrum, siehe Tabelle 9). Es war unmöglich, diese beiden Verbindungen zu trennen.



2.6.2 Verseifung der Verbindung 91

Die Hydrolyse der O-Acetylgruppen und des Methylesters im letzten Schritt der Synthese muß so durchgeführt werden, daß die Carbamoylgruppe nicht hydrolysiert wird. Ein mildes Reagenz für die Verseifung ist Lithiumhydroxid in einem Tetrahydrofuran-Wasser-Gemisch^{74a)}.

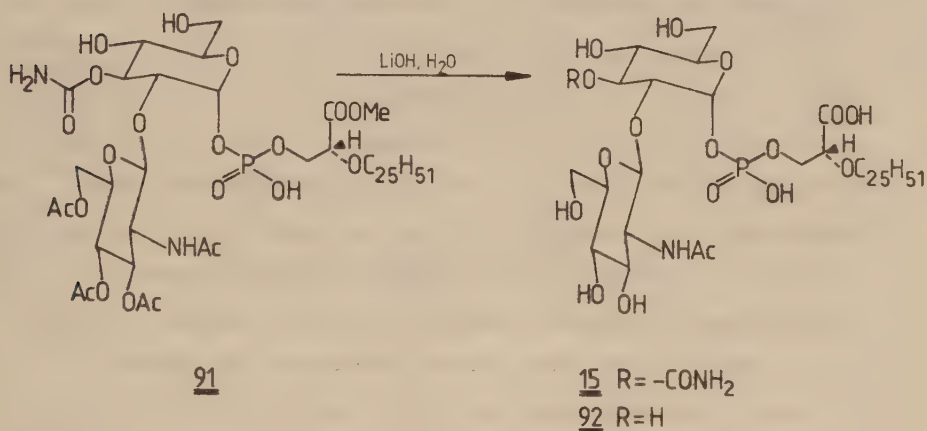
Bei der Hydrolyse der Verbindung 91 mit Lithiumhydroxidlösung konnte in einem Vorversuch festgestellt werden, daß

- a) die Reaktion nach fünf Minuten noch nicht vollständig beendet war,
- b) das Edukt 91 nach zehn Minuten vollständig abreagiert hatte,
- c) ein zweites Produkt, unpolarer als Verbindung 15, entstand, das nach fünf Minuten bereits in Spuren vorhanden war und mit der Zeit mengenmäßig zunahm.

Das Reaktionsgemisch wurde daher nach etwa acht Minuten

durch Zusatz von Dowex-50 (H^+ -Form) neutralisiert. Bei dem polareren der beiden Produkte handelt es sich um die gewünschte Verbindung 15, wohingegen es sich bei dem unpolareren Produkt wahrscheinlich um die Verbindung ohne Carbamoylgruppe 92 handelt (Abb. 36).

Abb. 36



Nach Säulenchromatographie konnte eine Substanz erhalten werden, die Verbindung 15 enthielt. Erst durch weitere Reinigung am Adsorberharz HP-20 und durch Reversed-Phase-Chromatographie konnte ein spektroskopisch einheitliches Produkt 15 isoliert werden.

2.6.3 Strukturzuordnung der Verbindung 15

Die Strukturzuordnung der Verbindung 15 erfolgte durch FAB-MS und ^{13}C -NMR-Spektroskopie. Bei der Zuordnung der ^{13}C -Signale wurden zum Vergleich die Spektren der Verbindungen 9^{3,19)}, 12^{3,19)} und 90 herangezogen (Tabelle 1).

Alle strukturelevanten ^{13}C -Signale der Verbindung 15 konnten zugeordnet werden. Das Vorhandensein der Carbamoylgruppe läßt sich durch die Lage des ^{13}C -Signals des Kohlensäure-C-Atoms bei $\delta = 159.1$ leicht beweisen. Dieser Wert stimmt gut mit Vergleichswerten überein. Das Fehlen jedweder Resonanzsignale im Bereich zwischen $\delta = 49.6$ und $\delta = 56.9$ zeigte, daß auch der Methylester hydrolysiert worden war. In Verbindung 90 konnte das Signal des Methylesters bei $\delta = 51.8$ beobachtet werden. Bei Verbindungen vom Typ 15 ist es schwierig, gute ^1H -NMR-Spektren zu erhalten³⁾. Aus Substanzmangel wurde daher darauf verzichtet, geeignete Bedingungen für die Aufnahme eines solchen Spektrums auszutesten.

Auch das Massenspektrum zeigte Übereinstimmung mit dieser Struktur.

Tabelle 1: ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindungen 9, 12, 90 und 15

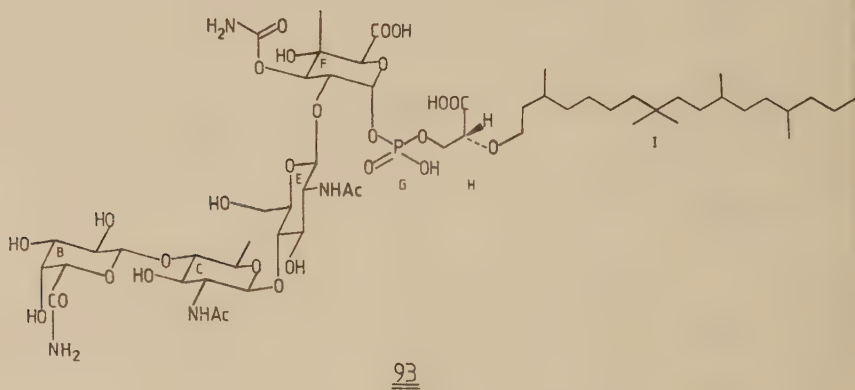
	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>90</u>	<u>15</u>
Einheit E				
-NH-CO-CH ₃	172.6	173.1	171.9	?
-O-CO-CH ₃			170.7, 170.5, 169.8	
C-1	101.9	102.4	101.8	103.0
C-2	55.2	55.3	55.3	56.9
C-3	73.3	73.1	73.4	74.7
C-4	69.4	69.7	69.8	70.8
C-5	75.5	75.6	72.0	76.9
C-6	60.2	60.4	62.5	61.5
-NH-CO-CH ₃	21.7	22.1	23.5	23.1
-O-CO-CH ₃			20.8, 20.6, 20.5	
Einheit F				
-O-CO-NH ₂	157.2	-----	157.6	159.1
C-1	94.5	94.1	95.7	95.9
C-2	76.7	78.7	79.6	78.2
C-3	73.8	73.8	73.8	74.8
C-4	72.2	72.5	69.2	69.1
C-5	71.9	72.0	73.1	73.2
C-6	172.2	173.5	61.6	61.5
-CH(CH ₃) ₂			13.0-14.0	
-CH(CH ₃) ₂			17.4-18.1	
Einheit G				
HN ⁺ (CH ₂ CH ₃) ₃			45.7	47.2
HN ⁺ (CH ₂ CH ₃) ₃			8.8	9.0
Einheit H				
C-1	?	176.7	171.6	?
C-2	77.2	80.0	79.8	80.0
C-3	65.6	66.2	66.3	66.9 (?)
-CO-OCH ₃			51.8	kein Signal in diesem Bereich
Einheit I				
C-1	69.2	68.4	69.7	69.1
C-2	35.6	?	?	?
C-8	?	?	32.7	?

3 Biologische Untersuchungen

3.1 In-vivo Tests

Die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK, in $\mu\text{g/ml}$) der Verbindung 15 gegenüber zwanzig Testkeimen erfolgte im Agarverdünnungstest. Das Wachstumsmedium, hier Müller-Hinton-Agar, wurde dazu mit dem Testkeim geimpft und mit der Probelösung inkubiert. Als Maß für das Bakterienwachstum gilt dabei die Trübung des Agars. Es sei erwähnt, daß die minimale Hemmkonzentration vom Wachstumsmedium abhängt⁵⁾. Die Untersuchungsergebnisse von vier der zwanzig Teststämme sind in Tabelle 2 aufgeführt. Im Vergleich dazu sind auch die Ergebnisse der in-vivo Tests der Verbindungen 1, 6-12 und 93¹⁹⁾ (Abb. 37) angegeben.

Abb. 37



Ein Vergleich zeigt, daß Verbindung 15, wie nicht anders zu erwarten, gegenüber den gram-negativen Bakterien keine Aktivität zeigt. Aber auch die Aktivität gegenüber den gram-positiven Bakterien ist so gering, daß Verbindung 15 als antibiotisch inaktiv eingestuft werden muß.

Tabelle 2: Minimale Hemmkonzentration (in µg/ml) von Moenomycin A (1) und den Abbauprodukten 6-12 und 93 sowie der Verbindung 15 gegen verschiedene Teststämme.

	Staph. aureus 503	Strept. pyogenes 308 A	Strept. pyogenes 77 A	E. coli DC 2
<u>1</u>	0.19	3.13	0.004	25.00
<u>6</u>	< 0.19	6.25		50.00
<u>7</u>	1.56	6.25		>100.00
<u>93</u>	3.13	12.50	0.78	> 50.00
<u>8</u>	3.13	12.50	0.39	50.00
<u>9</u>	12.50	12.50	1.56	50.00
<u>10</u>	> 50.00	6.25	3.13	> 50.00
<u>12</u>	> 50.00	>50.00	12.50	> 50.00
<u>11</u>	> 50.00	>50.00	>50.00	> 50.00
<u>15</u>	>100.00	12.50	12.50	50.00

3.2 In-vitro Tests

Verbindung 15 wurde auch in einem in-vitro Test auf seine inhibierende Wirkung auf die Bildung des Peptidoglycans im Transglycosylierungsschritt hin untersucht. Hierfür wurden die transglycosylase-aktiven Enzyme und die mit [^{14}C]-Alanin radioaktiv markierte Lipidvorstufe 4 in Enzympräparationen von *E. coli* K 12 verwendet. Aus der Aktivitätsverteilung zwischen Lipidvorstufe und Glycanpolymerisat ergibt sich dann die Enzym-inhibierung¹³⁾. Es gilt

$$\text{Inhibierung} = \frac{\text{Aktivität (Lipidvorstufe)}}{\text{Aktivität (Lipidvorstufe)} + \text{Aktivität (Polymer)}}$$

Tabelle 3 faßt die Ergebnisse für Flavomycin[®], Moenomycin A (1) und die Abbauprodukte 6-14, und 93 sowie für die Verbindung 15 zusammen.

Auch in diesem Test erwies sich die Verbindung 15 als antibiotisch inaktiv.

Tabelle 3: Der Effekt von Flavomycin[®], Moenomycin A (1), der Abbauprodukte 6-14 und 93 sowie der Verbindung 15 auf die Bildung des Peptidoglycans im Transglycosidierungsschritt.

Produkt	Konzentration	% Inhibierung
Flavomycin [®]	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	23
<u>1</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	54
<u>6</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	0
<u>7</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	8
<u>14</u>	100 µg/ml	100
	10 µg/ml	64
	1 µg/ml	0
<u>93</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	75
<u>8</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	30
<u>9</u>	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	100
	0.1 µg/ml	45
<u>10</u>	100 µg/ml	100
	10 µg/ml	100
	1 µg/ml	53
<u>12</u>	100 µg/ml	100
	10 µg/ml	56
	1 µg/ml	0
<u>11</u>	100 µg/ml	16
	10 µg/ml	0
	1 µg/ml	0
<u>13</u>	100 µg/ml	87
	10 µg/ml	44
	1 µg/ml	19
<u>15</u>	10 µg/ml	0
	1 µg/ml	0
	0.1 µg/ml	0

3.3 Diskussion der Ergebnisse

Sowohl der in-vivo Test als auch der in-vitro Test zeigen, daß die Verbindung 15 antibiotisch inaktiv ist. Vergleicht man Verbindung 9, das letzte noch voll aktive Abbauprodukt des Moenomycin A, und Verbindung 15 (Abb. 8), so erkennt man, daß die strukturellen Unterschiede in der Einheit F zu finden sind. Es sind dies die 4-C-Methylgruppe und die Säurefunktion. Welche der beiden Gruppen essentiell ist, müssen weitere Versuche zeigen.

4 Zusammenfassung

Ausgehend von D-Glucopyranose (20) konnte in zwei Schritten, Allylierung der 1-Hydroxylgruppe und Schutz der 4- und 6-Position mittels 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan, der Glucosylakzeptor 43 in 19 % Ausbeute hergestellt werden. Dieser wurde nach dem Oxazolin-Verfahren mit dem Glucosyldonor 52 zu den beiden Disacchariden 58 und 59 umgesetzt. Bedingt durch die sterische Hinderung, die durch die 1,1,3,3-Tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl-Schutzgruppe verursacht wurde, konnte die sonst übliche Reaktivität der Hydroxylgruppen an C-2 und C-3 umgekehrt werden. Das (β 1 $\rightarrow$ 2)-glucosidisch verknüpfte Disaccharid 58 wurde in 46 % Ausbeute und das (β 1 $\rightarrow$ 3)-glucosidisch verknüpfte Disaccharid 59 in 25 % Ausbeute erhalten (Abb. 38).

Umsatz von 58 mit Trichloracetylisocyanat, Abspaltung der Trichloracetylgruppe mit Kaliumcarbonat in Dichlormethan/Methanol/Wasser und Abspaltung der Allylgruppe mit Palladium-(II)-chlorid ergab in 56 % Ausbeute Verbindung 63, die sich als geeignet für die Phosphorylierung nach dem Phosphitester-Verfahren erwies (Abb. 38).

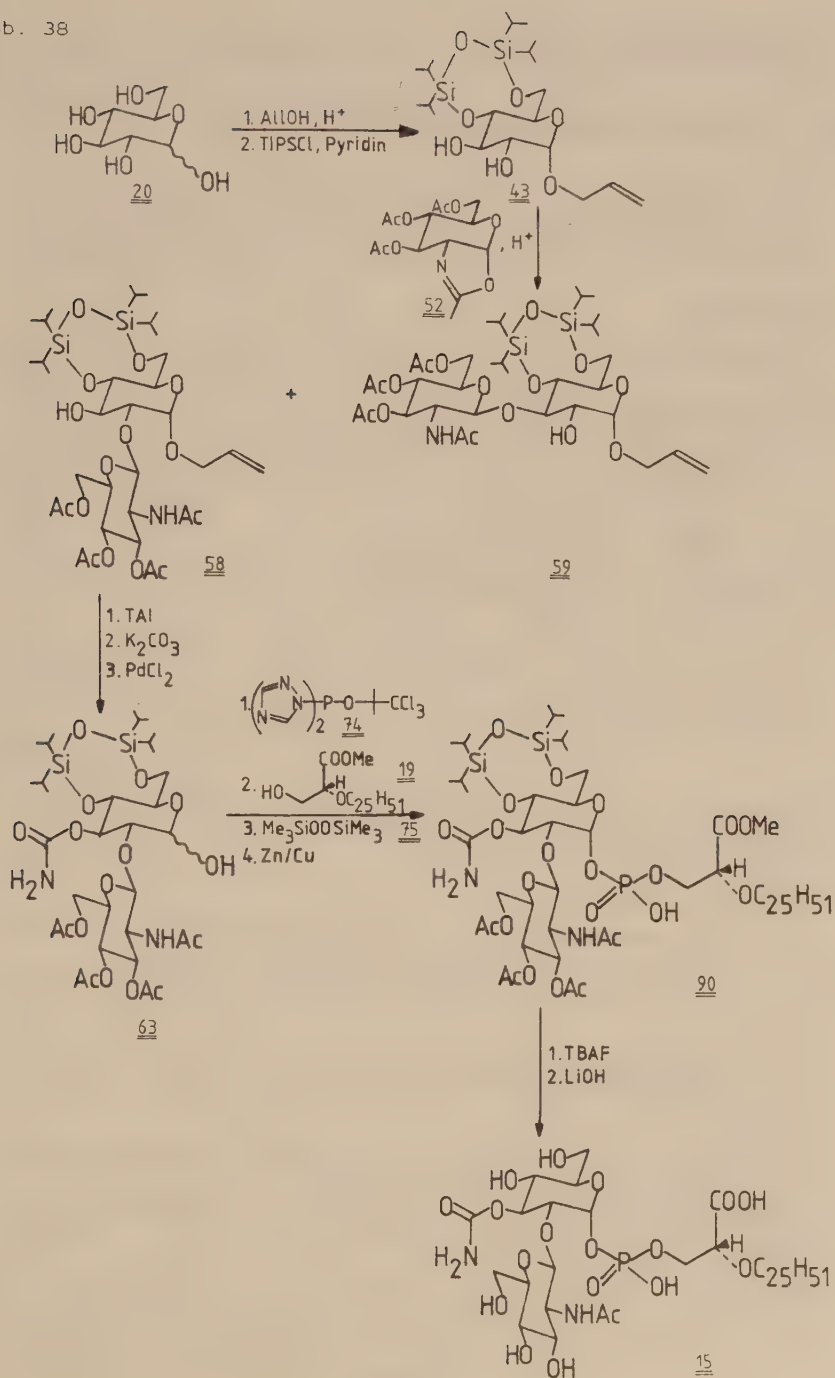
Nach einer Reihe von Vorversuchen wurde das Ditriazolid 74, das aus 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlorphosphit (73) in situ hergestellt wurde, als Phosphitylierungsmittel gewählt. Die Oxidation des bei der Umsetzung von 74 mit dem Disaccharid 63 und dem Alkohol 19 intermediär entstehenden Trialkylphosphits zum Trialkylphosphat erfolgte mit Bis(trimethylsilyl)peroxid (75). Die Phosphatschutzgruppe wurde anschließend reduktiv mit Zink-Kupfer-Paar abgespalten. Aufgrund der zum Teil geringen Stabilität der Zwischenprodukte bei der Phosphorylierung

erfolgte eine vollständige Charakterisierung erst auf der Stufe des Phosphorsäurediesters 90, der in 27 % Ausbeute erhalten wurde (Abb.38).

Desilylierung mit Tetra-n-butylammoniumfluorid und anschließende Esterhydrolyse mit Lithiumhydroxid ergab dann nach aufwendiger Reinigung die gewünschte Verbindung 15 (Abb. 38).

Mit Verbindung 15 steht erstmalig ein vollsynthetisches Strukturanalogon des Antibiotikums Moenomycin A zur Verfügung, das bis auf die 4-C-Methylgruppe und die Carboxylfunktion in F alle Strukturmerkmale des letzten noch aktiven Abbauproduktes 9 in sich vereinigt.

In den biologischen Tests erwies sich die Verbindung 15 als antibiotisch inaktiv. Es wird vermutet, daß die Säurefunktion für die antibiotische Wirksamkeit essentiell ist.



5 Experimenteller Teil

5.1 Verwendete Geräte, Materialien und Methoden

Zur Bestimmung der **Schmelzpunkte** wurde ein Mikroskopheiztisch nach Kofler (Fa. Reichert) verwendet. Die Schmelzpunkte sind korrigiert.

Die **NMR-Spektren** wurden mit folgenden Geräten aufgenommen: WP-80 (Fa. Bruker, 80 MHz, ^1H -NMR) und AM-400 (Fa. Bruker, 400 MHz, ^1H -NMR; 100.6 MHz, ^{13}C -NMR). Die chemischen Verschiebungen werden in δ -Werten mit TMS oder undeutertem Restlösungsmittel als interner Referenz angegeben. Das Lösungsmittel wird jeweils angeführt. Die Interpretation der Spektren erfolgte in der Regel nach 1. Ordnung.

Die Aufnahme der **IR-Spektren** erfolgte mit IR-Gitterspektrophotometern (Fa. Perkin-Elmer, Modelle 257 und 1310). Lösungen wurden in Ultrasilkküvetten ($d = 2.00\text{ cm}$) der Fa. Hellma vermessen. Das Lösungsmittel wird jeweils angegeben; die Konzentration betrug ca. 5-10 mg/0.2 ml. Bei Nujol-Verreibungen wurde etwa 1 mg Substanz verwendet.

Die **EI-Massenspektren** wurden mit den Geräten MAT-CH-5 und MAT-731 (Fa. Varian) aufgenommen. Die Elektronenenergie betrug 70 eV.

Die **Liquid-SIMS Messungen** wurden mit den folgenden Geräten durchgeführt:

- a) MAT 731/SS 200 (Fa. Varian) mit modifizierter Sattelfeldionenquelle (Fa. Ion Tech Ltd.); Xenon als Primärstrahl bei 4-8 keV ($\equiv$ FAB-MS).

b) MAT-CH-5 (Fa. Varian) mit modifiziertem Thermionenemitter; Cs-Ionen als Primärionenstrahl bei 4-6 keV in einem einfach fokussierenden Sektorfeld ($\equiv$ FIB-MS).

Es entstehen bei diesen Messungen keine Radikationen sondern Anlagerungsprodukte (= Quasimolekülonen). Die Matrix wird jeweils angegeben.

Bei chlorhaltigen Verbindungen wird immer der Peak für das [^{35}Cl]-Isotop angegeben.

Für die **analytische Dünnschichtchromatographie** (DC) wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (Fa. Merck, Typ 60 F₂₅₄, Schichtdicke 0.2 mm und Fa. Macherey und Nagel, Typ Alugram SIL G/UV₂₅₄, Schichtdicke 0.25 mm) verwendet. Die Auswertung erfolgte mit dem Molybdatophosphorsäure-Cer-(IV)-sulfat-Sprühreagenz¹²³⁾, mit dem von *Dittmer und Lester* entwickelten, für Phospholipide spezifischen, Sprühreagenz¹²⁴⁾ und, soweit möglich, mit einem UV-Betrachter (254 nm).

Die **präparative Säulenchromatographie** unter geringem Druck (ND-SC) wurde mit selbst gefertigten Säulen der handelsüblichen Größen A kurz (etwa 9 g Kieselgel), A lang (etwa 17 g Kieselgel) und B (etwa 60 g Kieselgel) vorgenommen. Hierzu wurde Kieselgel der Korngröße 35-70 μm (Fa. Grace) verwendet. Zur RP-ND-SC wurde Kieselgel der Korngröße 40-63 μm (Lichroprep RP-18, Fa. Merck) eingesetzt. Die Substanzen wurden, falls möglich, im Laufmittel gelöst, sonst auf Kieselgel (Verhältnis Substanz-Kieselgel ca. 1:5 bis 1:10) aufgezogen, auf eine Vorsäule (1-5 g Kieselgel, 63-100 μm) gegeben und mit einer Niederdruckpumpe (Fa. Duramat) bei 1-2 bar eluiert. Für einfache Trennungen wurde Kieselgel der Korngröße 63-100 μm (Fa. ICN Biomedicals) ver-

wendet. Das Elutionsmittel ist jeweils angegeben. Die Abtrennung anorganischer Bestandteile erfolgte mit dem Adsorberharz HP-20 (Fa. Mitsubishi).

Für die **Hochdruckflüssigkeitschromatographie** stand ein System, bestehend aus folgenden Einheiten, zur Verfügung: Pumpsystem 6000 (Fa. Waters Associates Inc.), UV-Detektor LC-3 (Fa. Pye Unicam), Schreiber PM 8221 (Fa. Philips). Für die analytische HPLC wurde Kieselgel der Korngröße 5 μm (Lichrosorb RP-18, Fa. Merck) verwendet. Die Bedingungen sind jeweils angegeben.

Die **Elementaranalysen** wurden bei der Fa. Dornis und Kolbe in Mülheim/Ruhr angefertigt.

Für die unter **Feuchtigkeitsausschluß** durchgeführten Versuche wurden trockene Lösungsmittel nach folgenden Verfahren bereitet: Acetonitril, Benzol, Dichlormethan, Ethyldiisopropylamin, Nitromethan, Pentan, Pyridin, Toluol und Triethylamin wurden mit Calciumhydrid mehrere Stunden unter Rückfluß erhitzt und dann destilliert. Zur Absolutierung von Diethylether und Tetrahydrofuran (THF) wurde mehrere Stunden unter Rückfluß mit Lithiumaluminiumhydrid erhitzt und dann destilliert. Allylalkohol, Ethanol und Methanol wurden mit Magnesiumspänen mehrere Stunden unter Rückfluß erhitzt und dann destilliert. Durch Abdestillieren von Kaliumcarbonat wurde säurefreies Trichlormethan erhalten.

2-Trichlormethyl-2-propanol wurde 1-2 h bei 100°C unter Normaldruck über Calciumchlorid in der Trockenpistole getrocknet. p-Toluolsulfonsäure wurde bei 80°C im Hochvakuum über Sicapent in der Trockenpistole entwässert. Trockene p-Toluolsulfonsäure (p-TsOH) wurde an der violetten Farbe erkannt¹²⁵⁾. Bortrifluorid-Diethyletherat wurde von Calciumhydrid destil-

liert¹²⁶⁾ und Zink-Kupfer-Paar wurde nach Lit.¹²⁷⁾ bereitet.

Bei feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen wurden Zuckerderivate entweder 12 Stunden über Sicapent bei 40°C im Hochvakuum in der Trockenpistole getrocknet oder mehrfach mit absolutem THF bei 40°C im Argonstrom eingedampft und dann mehrere Stunden im Hochvakuum belassen.

Alle feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen wurden in trockenen Glasapparaturen (mehrstündiges Erhitzen auf 130°C und dann mehrmaliges Evakuieren und Begasen mit Argon) unter Argonüberdruck durchgeführt. Die Eingabe von Substanzen und Reagenzien erfolgte mit Hilfe der Septentechnik¹²⁸⁾. Für kleine Ansätze feuchtigkeitsempfindlicher Reaktionen wurden Injektionsflaschen (Fa. WGA) der handelsüblichen Größen 1, 2, 5 und 10 ml verwendet. Die Gefäße wurden durch Aluminiumkappen mit teflonkaschierter Scheibe oder Gummieinsatz verschlossen (Verschließzange). Die Vorbehandlung der Gefäße und die Durchführung der Reaktionen erfolgte wie oben beschrieben.

Alle Eindampfoperationen wurden, wenn nicht anders angegeben, bei 40°C im Wasserstrahlvakuum mit Hilfe eines Rotationsverdampfers ausgeführt.

5.2 Herstellung der monosaccharidischen Bausteine

5.2.1 Herstellung der Glucosylakzeptoren

1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- α -D-glucopyranose (38)

38 wurde nach *Wolfrom und Thompson* hergestellt⁷⁰⁾.

Schmp. und spektroskopische Daten stimmen mit Literaturangaben überein.

Umsetzung von 38 mit 2,2,2-Trichlorethanol nach *Magnusson et al.*⁷¹⁾

Folgende Produkte wurden isoliert: 38 (38 %), 39a (10 %) und 39b (29 %).

2',2',2'-Trichlorethyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosid (39a)

Schmp. und spektroskopische Daten stimmen mit Literaturangaben überein.

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%)$ = 571 (0.77, $[M+H+Gly]^+$), 479 (1.36, $[M+H]^+$), 419 (1.01, $[M+H-AcOH]^+$), 331 (44.5, $[M+H-CCl_3CH_2OH]^+$), 301 (14), 271 (5.5, $[331-AcOH]^+$), 229 (7.0, $[331-AcOH-CH_2CO]^+$), 211 (5.5, $[331-2AcOH]^+$), 169 (100, $[331-2AcOH-CH_2CO]^+$),

109 (61.0, [331-3AcOH-CH₂CO]⁺).

C₁₆H₂₁Cl₃O₁₀ (479.7) Gef. 479 ([M+H]⁺, FIB-MS)

2',2',2'-Trichlorethyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosid (39b)

Schmp. und spektroskopische Daten stimmen mit Literaturangaben überein.

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); m/z(%) = 571 (0.95, [M+H+Gly]⁺), 501 (1.25), 479 (0.75, [M+H]⁺), 443 (0.83, [M+H-HCl]⁺), 419 (0.65, [M+H-AcOH]⁺), 405 (0.75), 331 (48.5, [M+H-CCl₃CH₂OH]⁺), 301 (7), 261 (11), 169 (100, [331-2AcOH-CH₂CO]⁺), 109 (93, [331-3AcOH-CH₂CO]⁺).

C₁₆H₂₁Cl₃O₁₀ (479.7) Gef. 479 ([M+H]⁺, FIB-MS)

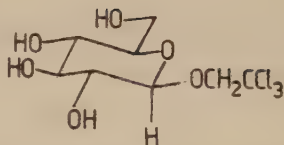
2',2',2'-Trichlorethyl-β-D-glucopyranosid (40)

Verbindung 39b (1.8 g, 3.75 mmol) wurde in 100 ml absol. Methanol gelöst, mit 1.0 ml einer Lösung von Natriummethanolat (4.6 M) in Methanol versetzt. Die Lösung wurde 2.5 h bei Raumtemp. gerührt. Danach wurde das Reaktionsgemisch mit Dowex-50 (H⁺-Form) neutralisiert, filtriert und auf ca. 5 ml eingeeengt. Der Rückstand wurde mit dest. Wasser aufgenommen und lyophilisiert. Nach Umkristallisieren aus Essigester/Petrolether wurden

1.06 g (91 %) 40 erhalten.

Schmp. 151-152°C (Essigester/Petrolether)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, $[\text{D}_5]\text{-Pyridin}$; δ =
3.80-4.87 (mk, 6H, 2-H,
3-H, 4-H, 5-H, $\text{CH}_2\text{-6}$), darin
4.55 und 4.73 (AB-System, 2H,
 $\text{O-CH}_2\text{-CCl}_3$); 5.13 (d, 1H, 1-H); 6.46 (breit, 1H, OH,
tauscht mit D_2O aus); 6.90-7.70 (breit, 3H, OH,
tauschen mit D_2O aus).
 $|J_{\text{AB}}| = 11.8 \text{ Hz}$, $J_{1,2} = 7.3 \text{ Hz}$.



FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 403$ (2.3, $[\text{M}+\text{H}+\text{Gly}]^+$), 325 (2.2), 301 (2.2), 255 (17.9, $[\text{M}+\text{H}+\text{Gly-CCl}_3\text{CH}_2\text{OH}]^+$), 225 (2.9), 185 (100, $[2\text{Gly}+\text{H}]^+$), 163 (15.6, $[\text{M}+\text{H-CCl}_3\text{CH}_2\text{OH}]^+$), 145 (19.5, $\text{M}+\text{H-CCl}_3\text{CH}_2\text{OH-H}_2\text{O}]^+$), 127 (9, $[\text{M}+\text{H-CCl}_3\text{CH}_2\text{OH-2H}_2\text{O}]^+$).

Die Verbindung 40 zeigt ein korrektes Isotopen-Pattern.

$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{Cl}_3\text{O}_6$ (311.5) Gef. 403 ($[\text{M}+\text{H}+\text{Gly}]^+$, FIB-MS)

Allyl- α -D-glucopyranosid (41)

Verbindung 41 wurde nach Lee und Lee hergestellt⁸⁰⁾.

Schmp. und spektroskopische Daten stimmen mit Literaturangaben

überein.

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 405$ (1.2, $[M+H+2Gly]^+$), 383 (2.7), 325 (5), 313 (19, $[M+H+Gly]^+$), 255 (31, $[M+H+Gly-AlloH]^+$), 225 (7), 221 (10, $[M+H]^+$), 185 (100, $[2Gly+H]^+$), 163 (40, $[M+H-AlloH]^+$), 145 (38, $[M+H-AlloH-H_2O]^+$) 127 (19, $[M+H-AlloH-2H_2O]^+$), 115 (11).

$C_9H_{16}O_6$ (220.2) Gef. 221 ($[M+H]^+$, FIB-MS)

Umsetzung von 40 mit 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan

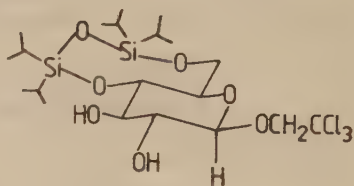
Verbindung 40 (66.9 mg, 0.214 mmol) wurde in 0.9 ml absol. Pyridin gelöst. Die Lösung wurde auf 0°C abgekühlt. Dann wurden 84.5 mg (84.0 µl, 0.268 mmol) 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan zugetropft, und das Reaktionsgemisch wurde 3 h bei 0°C gerührt. Nach Erwärmen auf Raumtemp. wurde der Ansatz eingeeengt und zwischen Wasser und Trichlormethan (5 ml, 1:1) verteilt. Die Wasserphase wurde noch zweimal mit je 5 ml Trichlormethan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt.

ND-SC (B-Säule, ca. 3200 Böden, Petrolether/Aceton 8:1 und Petrolether/Aceton 12:1) ergab 84.0 mg (71 %) 42.

2',2',2'-Trichlorethyl-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-8-D-glucopyranosid (42)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 0.94-1.16 (mk, 28H, Pr^i); 2.54 (breit, 2H, OH, tauschen mit D_2O aus); 3.12-3.93 (mk, 4H, Ringprotonen); 3.94-4.12 (mk, 2H, Ringprotonen); 4.16 und 4.51 (AB-System, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CCl}_3$); 4.61 (d, 1H, 1-H).

$|J_{\text{AB}}| = 11.7 \text{ Hz}$, $J_{1,2} = 7.4 \text{ Hz}$.



FAB-MS: (Matrix: Triethanolamin); $m/z(\%) = 510 (0.1, [\text{M}+\text{H-C}_3\text{H}_7]^+)$, $405 (0.1, [\text{M}+\text{H-CCl}_3\text{CH}_2\text{OH}]^+)$, $387 (0.4, [405-\text{H}_2\text{O}]^+)$, $315 (0.5)$, $289 (1.1)$, $261 (6.9, [\text{A}]^+)$, $235 (3.8, [\text{B}]^+)$, $150 (100)$, $148 (79, [\text{CCl}_3\text{CH}_2\text{OH}]^+)$, $118 (70)$, $87 (14)$, $73 (15)$.

$\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{O}_7\text{Si}_2$ (554.1) Ber. C 43.36 H 7.10
Gef. C 43.40 H 7.10

Allyl-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)- α -D-glucopyranosid (43)

Verbindung 43 wurde nach J. J. Oltvoort et al. hergestellt^{57b)}.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit Ausnahme der Zuordnung

der Signale für die Isopropylgruppen im ^{13}C -NMR-Spektrum mit Literaturangaben überein.

FIB-MS: $m/z(\%) = 463 (3.5, [\text{M}+\text{H}]^+)$, $405 (24, [\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}]^+)$,
 $387 (17, [\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{AlloH}]^+)$, $303 (11)$, $289 (18)$, $287 (13)$,
 $261 (100, [\text{A}]^+)$, $235 (40, [\text{B}]^+)$, $217 (10)$, $175 (13)$,
 $161 (14)$, $147 (20)$.

$\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_7\text{Si}_2$ (462.7) Gef. 463 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, FIB-MS)

Allyl-2,3-di-O-acetyl-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)- α -D-glucopyranosid (44)

Verbindung 44 wurde nach J. J. Oltvoort et al. hergestellt^{57b)}.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit Literaturangaben überein.

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin/Zitronensäuremethylester);
 $m/z(\%) = 489 (1.4, [\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}]^+)$, $429 (2.3, [\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-\text{AcOH}]^+)$,
 $387 (4.6, [\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-\text{AcOH}-\text{CH}_2\text{CO}]^+)$, $369 (2.8, [\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-2\text{AcOH}]^+)$, $319 (6)$, $261 (12, [\text{A}]^+)$,
 $235 (3, [\text{B}]^+)$, $213 (11)$, $203 (40)$, $157 (100)$, $139 (18)$, $115 (26)$.

$\text{C}_{25}\text{H}_{46}\text{O}_9\text{Si}_2$ (546.8) Gef. 489 ($[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}]^+$, FIB-MS)

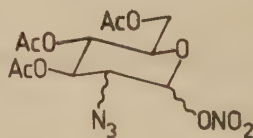
5.2.2 Herstellung der Glucosyldonatoren

Azidonitrierung von 3,4,6-Tri-O-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxy-D-arabino-hex-1-enitol (45)

Ein Gemisch aus Natriumazid (20.9 mg, 0.321 mmol) und Ammoniumhexanitratocera-^t(IV) (311.4 mg, 0.568 mmol) wurde auf -20°C abgekühlt und mit einer Lösung der Verbindung 45 (53.5 mg, 0.197 mmol) in 1.0 ml absol. Acetonitril versetzt. Die Suspension wurde bei -20°C 5.5 h gerührt. Danach wurde die Reaktion durch Zugabe von ca. 1 ml eiskaltem Diethylether und ca. 1 ml eiskaltem dest. Wasser abgebrochen. Die organische Phase wurde dreimal mit ca. 2 ml eiskaltem Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt.

Rohprodukt: 54.9 mg

¹H-NMR: 80 MHz, CDCl₃; δ = 1.90-2.20 (OAc-Signale); 3.40-4.50 (mk, Ringprotonen); 4.85-5.58 (mk, Ringprotonen); 5.60 (d, $J_{1,2}$ = 8.9 Hz, 1-H der Verbindung 46b); 6.20 (d, $J_{1,2}$ = 2.0 Hz, 1-H der Verbindung 47); 6.32 (d, $J_{1,2}$ = 4.3 Hz, 1-H der Verbindung 46a).



Das Integrationsverhältnis von Acetylprotonen zu Ringprotonen betrug 9:4:2. Für die Produktverteilung ergaben sich aus der Integration der Signale der anomeren Protonen folgende Verhältnisse:

$$\underline{46a} : \underline{46b} : \underline{47} = 0.5 : 0.8 : 1$$

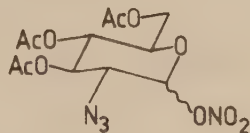
$$\underline{46a} : \underline{46b} = 0.6 : 1.0$$

In einem anderen Ansatz konnte durch Azidonitrierung der Verbindung 45 (101.8 mg, 0.374 mmol) nach SC (B-Säule, ca. 3100 Böden, Toluol/Diethylether 9:1) 24.4 mg (18 %) der Anomeren 46a und 46b, 43.2 mg (31 %) 47 und 36.7 mg (27 %) eines Gemisches der Verbindungen 46a, 46b und 47 erhalten werden.

3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α , β -D-glucopyranosylnitrat
(46a,b)

Das Anomerengemisch war geringfügig mit 47 (10 %) verunreinigt.

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 1.90-2.20 (OAc-Signale); 3.50-4.50 (mk, Ringprotonen); 4.85-5.55 (mk, Ringprotonen); 5.60 (d, $^3J_{1,2} = 9.0$ Hz, 1-H der Verbindung 46b); 6.32 (d, $^3J_{1,2} = 4.2$ Hz, 1-H der Verbindung 46a).



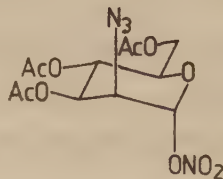
Das Integrationsverhältnis von Acetylprotonen zu Ringprotonen betrug 9:4:2. Für die Produktverteilung ergab sich aus der Integration der Signale der anomeren Protonen folgendes Verhältnis:

$$\underline{46a} : \underline{46b} = 0.7 : 1.0$$

3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-mannopyranosyl-
nitrat (47)

Schmp.: 84-85.5°C (Essigester/Petrolether)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 2.07 (s, 3H, OAc); 2.10 (s, 3H, OAc); 2.13 (s, 3H, OAc); 3.93-4.46 (mk, 4H, Ringprotonen); 5.10-5.60 (mk, 2H, Ringprotonen); 6.21 (d, 1H, 1-H).
 $J_{1,2}$ = 2.0 Hz.



IR: CHCl_3 ; 2120 (N_3), 1735 (C=O), 1665 (ONO_2) cm^{-1} .

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%)$ = 469 (3.4, $[\text{M}+\text{H}+\text{Gly}]^+$), 377 (8, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 314 (20, $[\text{M}+\text{H}-\text{HNO}_3]^+$), 133 (100, $[\text{Cs}]^+$).

$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_{10}$ (376.3) Gef. 377 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, FIB-MS)

Umsetzung der 3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy-D-hexopyranosylnitrate 46a, 46b und 47 mit Lithiumbromid

3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-mannopyranosyl-
bromid (49)

Verbindung 47 (21.5 mg, 57.1 μmol) und Lithiumbromid (47.4

mg, 0.546 mmol) wurden in 0.45 ml absol. Acetonitril gelöst und 15.5 h bei Raumtemp. gerührt. Dann wurde mit ca. 2 ml Dichlormethan verdünnt. Die organische Phase wurde zweimal mit ca. 2 ml dest. Wasser gewaschen und eingeengt.

Im Dünnschichtchromatogramm (Toluol/Diethylether 3:1, zweimal entwickelt) konnten das Edukt 47 (Rf-Wert = 0.54) und das Produkt 49 (Rf-Wert = 0.59) identifiziert werden.

ND-SC (A-Säule, lang, ca. 3100 Böden Toluol/Diethylether 9:1) ergab 4.9 mg (23 %) 47, 5.8 mg (26 %) 49 und 1.7 mg Mischfraktionen.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit Literaturangaben überein⁷⁶⁾.

3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid (48)

Das Gemisch 46a,b (21.8 mg, 57.9 μ mol) wurde wie oben beschrieben mit Lithiumbromid (39.2 mg, 451 μ mol) umgesetzt.

Im Dünnschichtchromatogramm (Toluol/Diethylether 3:1, zweimal entwickelt) konnte das Eduktgemisch 46a,b (Rf-Wert = 0.51) nicht mehr nachgewiesen werden. Das Produkt 48 (Rf-Wert = 0.54) konnte neben drei Nebenprodukten (Rf-Werte = 0.05, 0.59 und 0.63) identifiziert werden.

ND-SC (A-Säule, lang, ca. 3300 Böden Toluol/Diethylether 9:1) ergab 5.4 mg (24 %) 48.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit Literaturangaben überein⁷⁸⁾.

2-Acetanido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosyl-
chlorid (53)

Verbindung 53 wurde nach *Horton und Wolfrom* hergestellt⁷⁹⁾.

Schmp.: 114-118°C (Diethylether, Lit.⁷⁹⁾: 127-128°C)

2-Acetanido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-desoxy- β -D-gluco-
pyranose (54b)

Verbindung 54b wurde aus Verbindung 53 nach *Horton* herge-
stellt⁸⁰⁾.

Schmp. und spektroskopische Daten stimmen mit Literaturangaben
überein.

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); m/z(%) = 390 (11, [M+H]⁺),
348 (9, [M+H-CH₂CO]⁺), 330 (100, [M+H-AcOH]⁺), 288
(9, [M+H-AcOH-CH₂CO]⁺), 270 (14, [M+H-2AcOH]⁺), 228
(9, [M+H-2AcOH-CH₂CO]⁺), 210 (41, [M+H-3AcOH]⁺), 168
(64, [M+H-3AcOH-CH₂CO]⁺), 150 (81, [M+H-4AcOH]⁺), 126
(38, [M+H-3AcOH-2CH₂CO]⁺), 108 (49, [M+H-4AcOH-
CH₂CO]⁺).

C₁₆H₂₃NO₁₀ (389.4) Gef. 390 ([M+H]⁺, FIB-MS)

2-Methyl-(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-dideoxy- α -D-glucopyrano)-
[2,1-d]-2-oxazolin (52)

Verbindung 52 wurde nach *Pravdic, Inch und Fletcher* hergestellt⁸³⁾.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit Literaturangaben überein^{81,83)}.

5.3 Herstellung von β -glycosidisch verknüpften Disacchariden

5.3.1 Versuche zur Umsetzung der Verbindung 42 unter Trimethylsilyltrifluormethansulfonat-Katalyse

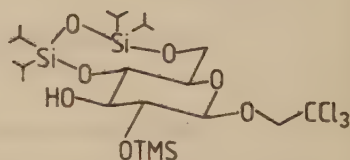
In einem Injektionsgefäß wurden Verbindung 52 (45.0 mg, 0.137 mmol), Molekularsieb (Pulver, 4Å, 141.7 mg) und Verbindung 42 (56.8 mg, 0.103 mmol) in 0.8 ml absol. Dichlormethan 1 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Zusatz von 4.0 mg (3.5 μ l, 18.1 μ mol) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat wurde weiter bei Raumtemp. gerührt. Nach 3 h wurden weitere 17.3 mg (15.0 μ l, 77.6 μ mol) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat zugesetzt, da dünnschichtchromatographisch (Petrolether/Essigester 2:1) keine Reaktion zu erkennen war. Nach 10.5 h wurde die Reaktion durch Zusatz von 0.5 ml Triethylamin abgebrochen. Der Ansatz wurde filtriert und eingeeengt.

ND-SC (A-Säule, lang, ca. 3100 Böden, Petrolether/Essigester 30:1) ergab 6.3 mg (10 %) 55, 3.2 mg (5 %) 56 und 13.3 mg (19 %) 57.

Beim dünnsschichtchromatographischen Verfolgen (Petrol-ether/Essigester 2:1) der Reaktion von 42 mit 54b unter den geschilderten Reaktionsbedingungen konnten nur die Verbindungen 58 und 59 nachgewiesen werden.

2',2',2'-Trichlorethyl-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-2-O-trimethylsilyl-8-D-glucopyranosid (55)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 0.20 (s, 9H, TMS); 0.95-1.23 (mk, 28H, Pr^i); 2.22 (m, breit, 1H, OH); 3.20 (m, 1H, 5-H);



3.30-4.63 (mk, 5H, Ringprotonen), darin 4.12 und 4.47 (AB-System, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CCl}_3$); 4.53 (d, 1-H).

$|J_{\text{AB}}|$ = 11.9 Hz, $J_{1,2}$ = 7.1 Hz, $J_{4,5}$ = 9.1 Hz, $J_{5,6}$ = $J_{5,6'}$ = 1.8 Hz.

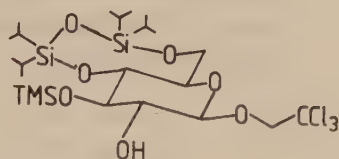
IR: CHCl_3 ; 3630 (OH) cm^{-1} .

MS: $m/z(\%)$ = 609 (0.1, $[\text{M-CH}_3]^+$), 583 (4.3, $[\text{M-C}_3\text{H}_5]^+$), 581 (3.6, $[\text{M-C}_3\text{H}_7]^+$), 565 (1.2, $[\text{M-C}_3\text{H}_5\text{-H}_2\text{O}]^+$), 563 (0.8, $[\text{M-C}_3\text{H}_7\text{-H}_2\text{O}]^+$), 545 (0.7), 493 (0.4, $[\text{M-CH}_2\text{CCl}_3]^+$), 477 (0.6, $[\text{M-OCH}_2\text{CCl}_3]^+$), 469 (3.0), 461 (3.7), 451 (5), 433 (26), 405 (17), 343 (15), 315 (17), 307 (11), 261 (23, $[\text{A}]^+$), 253 (14), 235 (50, $[\text{B}]^+$), 193 (11), 175 (14), 171 (16), 147 (17, $[\text{OCH}_2\text{CCl}_3]^+$), 135 (22), 129 (90), 119 (19), 103 (17), 93 (13), 81 (30), 73 (100, $[\text{TMS}]^+$), 69 (14), 57 (17), 43 (22, $[\text{C}_3\text{H}_7]^+$), 41 (18, $[\text{C}_3\text{H}_5]^+$).

$C_{23}H_{47}Cl_3O_7Si_3$ (626.2) Gef. 609 ($[M-CH_3]^+$, MS)

2',2',2'-Trichlorethyl-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-3-O-trimethylsilyl-β-D-glucopyranosid (56)

1H -NMR: 80 MHz, $CDCl_3$; δ = 0.20 (s, 9H, TMS); 0.96-1.21 (m, 28H, Pr^i); 2.31 (d, breit, 1H, OH); 3.15 (m, 1H, 5-H);



3.38-3.93 (mk, 3H, Ringprotonen); 3.93-4.14 (mk, 2H, Ringprotonen); 4.15 und 4.50 (AB-System, 2H, $O-CH_2-CCl_3$); 4.57 (d, 1H, 1-H).

$|J_{AB}| = 11.8$ Hz, $J_{1,2} = 7.4$ Hz, $J_{4,5} = 9.1$ Hz, $J_{5,6} = J_{5,6'} = 1.8$ Hz.

IR: $CHCl_3$; 3600 (OH) cm^{-1} .

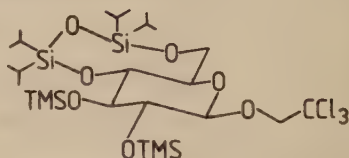
MS: $m/z(\%) = 609$ (0.4, $[M-CH_3]^+$), 583 (4.8, $[M-C_3H_5]^+$), 581 (4.0, $[M-C_3H_7]^+$), 565 (2.1, $[M-C_3H_5-H_2O]^+$), 563 (1.8, $[M-C_3H_7-H_2O]^+$), 535 (1.6), 493 (1.4, $[M-CH_2CCl_3]^+$), 491 (2.3), 477 (1.5, $[M-OCH_2CCl_3]^+$), 469 (1.6), 461 (2), 433 (9), 403 (13), 361 (40, $[M-OCH_2CCl_3-TMS-C_3H_7]^+$), 333 (13), 307 (51), 261 (18, $[A]^+$), 235 (27, $[B]^+$), 193 (25), 147 (17, $[OCH_2CCl_3]^+$), 135 (18), 129 (25), 113 (18), 99 (21), 91 (28), 85 (59), 73 (79, $[TMS]^+$), 57 (100), 43 (85, $[C_3H_7]^+$), 41 (50, $[C_3H_5]^+$).

$C_{23}H_{47}Cl_3O_7Si_3$ (626.2) Gef. 609 ($[M-CH_3]^+$, MS)

Eine Unterscheidung zwischen Verbindung 55 und Verbindung 56 ist aufgrund der Spektren nicht möglich; die Zuordnung ist daher willkürlich.

2',2',2'-Trichlorethyl-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-2,3-di-O-trimethylsilyl- β -D-glucopyranosid (57)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 0.18 (s, 9H, TMS); 0.22 (s, 9H, TMS); 0.94–1.24 (mk, 28H, Pr^i); 3.13 (dt, 1H, 5-H); 3.30–



3.90 (mk, 3H, Ringprotonen); 3.93–4.12 (mk, 2H, Ringprotonen); 4.11 und 4.49 (AB-System, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CCl}_3$); 4.49 (d, 1H, 1-H).

$|J_{\text{AB}}|$ = 11.8 Hz, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{4,5}$ = 9.0 Hz, $J_{5,6}$ = 1.8 Hz.

IR: CHCl_3 ; keine OH-Bande.

MS: $m/z(\%)$ = 681 (0.3, $[\text{M-CH}_3]^+$), 655 (3.7, $[\text{M-C}_3\text{H}_5]^+$), 653 (3.2, $[\text{M-C}_3\text{H}_7]^+$), 623 (0.5, $[\text{M-TMS}]^+$), 565 (1.8, $[\text{M-CH}_2\text{CCl}_3]^+$), 563 (1.6), 549 (1.0, $[\text{M-OCH}_2\text{CCl}_3]^+$), 541 (1.3), 505 (5.4, $[\text{M-CCl}_3\text{CH}_2\text{OH-C}_3\text{H}_7]^+$), 491 (1.3), 477 (2.3), 459 (1.1, $[\text{M-CCl}_3\text{CH}_2\text{OH-OTMS}]^+$), 451 (6.9), 449 (3.0, $[\text{M-CH}_2\text{CCl}_3\text{-TMS-C}_3\text{H}_7]^+$), 417 (2.0, $[\text{M-OCH}_2\text{CCl}_3\text{-OTMS-C}_3\text{H}_7]^+$), 415 (2.4), 409 (4.4), 391 (4.0), 361 (31, $[\text{M-OCH}_2\text{CCl}_3\text{-2TMS-C}_3\text{H}_6]^+$), 333 (9), 307 (20), 261 (9, $[\text{A}]^+$), 235 (6, $[\text{B}]^+$), 217 (13), 204 (10), 193 (14), 147 (18, $[\text{OCH}_2\text{CCl}_3]^+$), 129 (24), 119

(9), 103 (14), 93 (7), 81 (13), 73 (100, [TMS]⁺), 43
(8, [C₃H₇]⁺), 41 (8, [C₃H₅]⁺).

C₂₆H₅₅Cl₃O₇Si₄ (698.4) Gef. 681 ([M-CH₃]⁺, MS)

5.3.2 Umsetzung der Verbindung 43 nach dem Oxazolin-Verfahren

Verbindung 43 (132.6 mg, 0.287 mmol) wurde in 2.5 ml einer 0.117 M Oxazolin-Lösung (0.293 mmol in absol. Toluol/Nitromethan 1:1) gelöst. Es wurden 0.5 ml (15.5 µmol) einer 0.031 M Lösung von wasserfreier p-TsOH in absol. Toluol zugesetzt. Die Lösung wurde dann bei 70°C gerührt. Nach 14.5 h wurden weitere 2.5 ml einer 0.117 M Oxazolin-Lösung (0.293 mmol in absol. Toluol/Nitromethan 1:1) und 0.5 ml (15.5 µmol) einer 0.031 M p-TsOH-Lösung in absol. Toluol zugegeben. Es wurde weiter bei 70°C gerührt. Nach 24 h erfolgte die Zugabe weiterer 1.25 ml einer 0.231 M Oxazolin-Lösung (0.289 mmol in Toluol/Nitromethan 1:1). Nach 40 h wurde die Reaktion durch Zusatz von 1 ml Pyridin abgebrochen. Die gelbe Lösung wurde auf Raumtemp. abgekühlt und eingengt.

ND-SC (B-Säule, ca. 3100 Böden, Petrolether/Essigester/Ethanol 6:1:0.6) ergab 20.3 mg (16 %) 43, 103.9 mg (46 %) 58 und 56.0 mg (25 %) 59.

Allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-α-D-glucopyranosid (58)

Schmp.: 246-249°C (Essigester/Petrolether)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃, COSY, ¹H-¹³C-Korrelation; s.
Tabelle 4.

¹³C-NMR: 100.6 MHz, CDCl₃, DEPT; s. Tabelle 5.

IR: Nujol-Verreibung; 3580, 3260 (breit, OH, NH), 1740 (C=O), 1650 (Amid I), 1570 (Amid II) cm⁻¹.

FAB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); m/z(%) = 792 (0.9, [M+H]⁺), 734 (0.2, [M+H-AlloH]⁺), 716 (1.9, [M+H-AlloH-H₂O]⁺), 691 (0.3, [M+H-AlloH-CH₃CO]⁺), 674 (0.4, [M+H-AlloH-AcOH]⁺), 617 (0.5), 554 (0.5, [M+H-AlloH-3AcOH]⁺), 539 (0.7), 525 (0.5), 447 (2.1), 433 (1.4), 420 (0.9), 405 (1.0, [M-Allo-E]⁺), 387 (1.7), 372 (1.8), 361 (1.1), 355 (4.1), 330 (100, [E]⁺), 303 (3).

C₃₅H₆₁NO₁₅Si₂ (792.0) Ber. C 53.08 H 7.76
Gef. C 52.86 H 7.70

Allyl-3-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-α-D-glucopyranosid (59)

Schmp. 145-148°C (Essigester/Petrolether)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃, COSY, ¹H-¹³C-Korrelation; s. Tabelle 4.

¹³C-NMR: 100.6 MHz, CDCl₃, DEPT; s. Tabelle 5.

IR: CHCl₃; 3600-3160 (OH, NH), 1740 (C=O), 1680 (Amid I), 1525 (Amid II) cm⁻¹.

FAB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); m/z(%) = 792 (3.5, [M+H]⁺), 734 (2.0, [M+H-AlloH]⁺), 708 (1.0), 692 (3.0, [M+H-AlloH-CH₂CO]⁺), 501 (0.5), 482 (0.5), 474 (1.0), 387 (6), 348 (12), 330 (100, [E]⁺), 315 (11), 303 (11).

C ₃₅ H ₆₁ NO ₁₅ Si ₂ (792.0)	Ber. C 53.08 H 7.76
	Ber. für C ₃₅ H ₆₁ NO ₁₅ Si ₂ *Essigester
	C 53.22 H 7.90
	Gef. C 53.46 H 7.80

Verhalten der Verbindungen 58 und 59 gegenüber p-Toluolsulfonsäure

Bei Verbindung 58 (13.2 mg, 16.7 μmol) ließ sich in 0.6 ml

absol. Toluol/Nitromethan 1:1 bei Zusatz von 50 μ l (1.9 μ mol) einer 0.037 M p-TsOH-Lösung in absol. Toluol dünnschichtchromatographisch (Petrolether/Essigester/Ethanol 3:1:1) innerhalb von 48 h bei 70°C keinerlei Reaktion feststellen.

Bei Verbindung 59 (7.3 mg, 9.2 μ mol) konnte in absol. Toluol/Nitromethan 1:1 bei Zusatz von 40 μ l (1.5 μ mol) einer 0.037 M p-TsOH-Lösung in absol. Toluol dünnschichtchromatographisch (Petrolether/Essigester/Ethanol 3:1:1) innerhalb von 48 h bei 70°C in Spuren die Bildung eines unpolaren Produktes beobachtet werden. Dieses war mit Verbindung 58 nicht identisch.

5.4 Reaktionen zur Funktionalisierung des Disaccharids 58

5.4.1 Herstellung der Carbamoylderivate

Umsetzung des Disaccharids 58 mit Trichloracetylisocyanat

Verbindung 58 (31.1 mg, 39.3 μ mol) wurde in 0.9 ml absol. Dichlormethan gelöst. Nach Abkühlen der Lösung auf 0°C wurden 9.5 mg (6 μ l, 50.6 μ mol) Trichloracetylisocyanat zugetropft. Nach 160 min wurde die Reaktion durch Zusatz von 0.1 ml absol. Methanol beendet. Dünnschichtchromatographisch (Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 3:1:1) konnte nur Verbindung 60 nachgewiesen.

ND-SC (A-Säule, lang, ca. 3000 Böden, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 7:1:0.7) ergab 15.7 mg (41 %) 60 und 22.0 mg der mit zwei Zersetzungsprodukten verunreinigten Verbindung 60.

Allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-glucopyranosyl)-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-3-O-trichloroacetylcarbamoyl-α-D-glucopyranosid (60)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 0.85-$

1.15 (mk, 28H, Pr^i); 1.86

(s, 3H, NHAc); 2.00 (s,

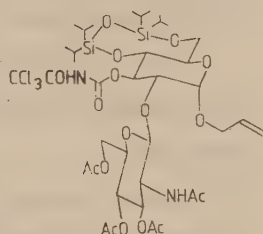
6H, OAc); 2.05 (s, 3H,

OAc); 3.15-4.30 (mk, 11H,

allyl. H, Ringprotonen);

4.80-6.20 (mk, 9H, NHAc, $-\text{CH}=$, $=\text{CH}_2$, 1-H;E, 3-H;E,

4-H;E, 1-H;F, 3-H;F); 8.70 (breit, CO-NH-CO).



IR: CHCl_3 ; 3580-3260 (NH), 1805 ($\text{CCl}_3\text{C=O}$), 1740 (C=O), 1675 (Amid I) cm^{-1} .

MS: Auch mit der FIB-Technik konnte kein Massenspektrum erhalten werden.

$\text{C}_{38}\text{H}_{61}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O}_{17}\text{Si}_2$ (980.4) Ber. C 46.55 H 6.27

Gef. C 46.80 H 6.40

Reaktionen der Verbindung 60 mit Base

Verbindung 60 (31.8 mg, 32.4 μmol) wurde in 0.6 ml Dichlormethan gelöst, und die Lösung wurde mit 40 μl Methanol und 0.31 ml einer 5proz. wässrigen Kaliumcarbonatlösung versetzt. Dieses heterogene Gemisch wurde 5 d bei Raumtemp. kräftig

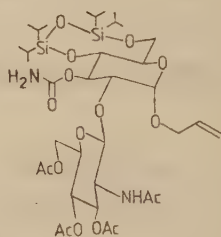
gerührt. Danach wurde die organische Phase einmal mit ca. 5 ml einer 5proz. wässrigen Kaliumcarbonatlösung ausgeschüttelt. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden dreimal mit je 5 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt.

ND-SC (A-Säule, kurz, ca. 1700 Böden, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 6:1:0.7) ergab 1.8 mg (6 %) 60 und 18.9 mg (70 %) 61.

Während sich Verbindung 60 im Zweiphasen-System mit ges. wässriger Kaliumcarbonatlösung innerhalb von 8 d zu drei Produkten zersetzte, wurde in homogener Phase mit Methanol als Lösungsmittel und 5proz. wässriger Kaliumcarbonatlösung als Base innerhalb von 4 h Zersetzung zu zwei Produkten beobachtet. Keines der entstandenen Produkte war mit Verbindung 61 identisch. Die Verbindungen 60 und 61 entstanden in absol. THF/Ethyl-diisopropylamin nach 5 d im Verhältnis von ca. 1 : 1 (Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 3:1:1).

Allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-glucopyranosyl)-3-O-carbamoyl-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- α -D-glucopyranosid (61)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 0.90-1.18 (mk, 28H, Pr^i); 1.96 (s, 3H, NHAc); 2.00 (s, 6H, OAc); 2.07 (s, 3H, OAc); 3.30-4.40 (mk, 11H, allyl. H, Ringprotonen); 4.75-6.25 (mk, 10H, $-\text{CH}=\text{,}=\text{CH}_2$, NH_2 , 1-H;E, 3-H;E, 4-H;E,



1-H;F, 3-H;F), darin 6.13 (d, breit, 1H, NHAc).

$J_{\text{NH},2\text{-H};\text{E}} = 8.0 \text{ Hz}$.

IR: CHCl_3 ; 3560-3130 (NH), 1730 (C=O), 1675 (Amid I),
1590 (Amid II) cm^{-1} .

FIB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); m/z (%) = 835 (1.8, $[\text{M}+\text{H}]^+$),
793 (0.2, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-\text{AcOH}]^+$), 716 (1.3, $[\text{M}+\text{H}-\text{AcOH}-\text{AcO}]^+$),
660 (0.2, $[\text{M}+\text{H}-\text{Allo}-2\text{AcO}]^+$), 658 (0.2, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-\text{AcOH}-\text{AcO}]^+$),
461 (0.3), 387 (0.7), 369 (1.2),
355 (1.1), 330 (10.1, $[\text{E}]^+$), 261 (5, $[\text{A}]^+$), 185 (100,
 $[\text{2Gly}+\text{H}]^+$), 171 (20), 157 (17).

$\text{C}_{36}\text{H}_{62}\text{N}_2\text{O}_{16}\text{Si}_2$	(835.1)	Ber.	C 51.78	H 7.48
		Gef.	C 51.81	H 7.52

Herstellung von 61 aus 58

Aus Verbindung 58 (147.0 mg, 185.6 μmol) in 4.6 ml absol. Dichlormethan und 42.9 mg (27 μl , 0.228 mmol) Trichloracetylisocyanat wurde Verbindung 60 wie zuvor beschrieben hergestellt. Nach Abbruch der Reaktion durch Zusatz von 0.5 ml absol. Methanol wurde der Ansatz auf Raumtemp. erwärmt, und das Reaktionsgemisch wurde mit 3.0 ml einer 5proz. wässrigen Kaliumcarbonatlösung versetzt. Es wurde 10 d bei Raumtemp. gerührt. Die wässrige Phase wurde fünfmal mit je 5 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt.

ND-SC (B-Säule, ca. 3300 Böden, Petrolether/Essigester/
Ethanol 6:1:0.6) ergab 122.6 mg (79 %) 61.

5.4.2 Abspaltung der Allylgruppe aus den Disacchariden 60 und 61

Isomerisierung von 60 mit dem Wilkinsonkatalysator

Verbindung 60 (31.8 mg, 32.4 μmol) und 1,4-Diazobicyclo[2.2.2]octan (5.0 mg, 44.6 μmol) wurden in 1.5 ml 90proz. Ethanol gelöst, und die Lösung wurde 3 min bei 90°C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemp. wurden 4.4 mg (4.8 μmol) Wilkinson-Katalysator zugesetzt. Dann wurde 130 min bei 100°C gerührt. Nach dem Abkühlen der gelben Lösung wurde filtriert und mit Toluol azeotrop destilliert.

Im entstandenen Produktgemisch konnte dünnschichtchromatographisch (Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 3:1:1) die Verbindung 60 nicht mehr nachgewiesen werden. Dafür war neben einer Reihe anderer Produkte auch die Verbindung 61 nachweisbar.

Umsetzung von 60 mit Palladium-(II)-chlorid

Verbindung 60 (32.8 mg, 33.5 μmol) und Palladium-(II)-chlorid (15.4 mg, 86.9 μmol) wurden in 0.2 ml einer 1 M Lösung von Natriumacetat in Eisessig/Wasser 20:1 suspendiert. Die Suspension wurde 51 h bei Raumtemp. kräftig gerührt. Dann wurde

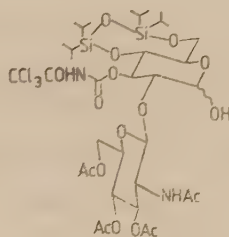
mit ca. 5 ml Essigester aufgenommen, und die organische Phase wurde dreimal mit je 3 ml ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und dreimal mit je 3 ml dest. Wasser gewaschen. Danach wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt.

ND-SC (A-Säule, lang, ca. 3000 Böden, Petrolether/Trichlormethan/Ethanol 6:1:0.8) ergab 3.5 mg (11 %) 60 und 14.7 mg (47 %) 62.

Beim Umsatz von Verbindung 60 (35.9 mg, 36.6 μ mol) mit 1.8 ml 0.1 M Natriumacetatlösung unter sonst identischen Bedingungen konnten nach 15 h Reaktionszeit 24.3 mg (71 %) 62 isoliert werden.

2-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -glucopyranosyl)-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-3-O-trichloracetylcarbamoyl-D-glucopyranose (62)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 0.83-1.16 (mk, 28 H, Pr^i); 1.89 (d, 3H, NHAc); 1.99 (s, 6H, OAc); 2.04 (s, 3H, OAc); 3.30-4.35 (mk, 10H, Ringprotonen, OH); 4.80-5.65 (mk, 5H, 1-H;E, 3-H;E, 4-H;E, 1-H;F, 3-H;F); 6.05 (m, breit, 1H, NHAc); 9.80 (breit, CO-NH-CO).



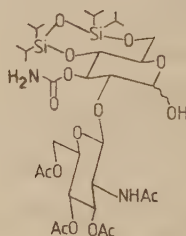
IR: CHCl_3 ; 3420 (NH), 1805 ($\text{CCl}_3\text{C=O}$), 1740 (C=O), 1675 (Amid I), 1575 (Amid II) cm^{-1} .

Umsetzung von 61 mit Palladium-(II)-chlorid

Beim Umsatz von Verbindung 61 (58.3 mg, 69.8 μmol) mit 3.5 ml 0.1 M Natriumacetatlösung unter sonst identischen Bedingungen (vgl. Umsetzung von 60) konnten nach 21 h 5.5 mg (10 %) 61 und 39.4 mg (71 %) 63 isoliert werden.

2-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -glucopyranosyl)-3-O-carbamoyl-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-D-glucopyranose (63)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 0.88-1.14 (mk, 28H, Pr^i); 1.97 (s, 9H, NHAc, OAc); 2.03 (s, 3H, OAc); 3.35-4.30 (mk, 10H, Ringprotonen, OH); 4.70-5.55 (mk, 7H, 1-H;E, 3-H;E, 4-H;E, 1-H;F, 3-H;F, NH_2); 6.32 (m, breit, 1H, NHAc).



IR: CHCl_3 ; 3580-3140 (NH), 1735 (C=O), 1670 (Amid I), 1580 (Amid II) cm^{-1} .

5.4.3 Desilylierung des Disaccharids 61

Verbindung 61 (36.4 mg, 43.6 μmol) wurde in 0.9 ml absol. THF gelöst, und die Lösung wurde mit 0.1 ml einer 1 M Tetra-n-butyl-ammoniumfluorid-(TBAF)-Lösung (in THF, 0.1 mmol) ver-

setzt. Nach 90min. Rühren bei Raumtemp. wurde das Reaktionsgemisch nach Zusatz von 0.5 ml dest. Wasser eingengt.

ND-SC (A-Säule, lang, ca. 2900 Böden, Petrolether/Essigester/Ethanol 1:1:1) ergab 21.0 mg (82 %) 64.

Allyl-2-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-3-O-carbamoyl- α -D-glucopyranosid (64)

Schmp. 187-190°C (96proz. Ethanol)

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, $[\text{D}_5]$ -Pyridin, COSY; s. Tabelle 6.

IR: CHCl_3 ; 3600-3100 (OH, NH), 1740 (C=O), 1665 (Amid I), 1605 (Amid II), 1550 cm^{-1} .

FIB-MS: (4.2 keV, Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 743$ (0.5, $[\text{M-H}+\text{Na}+\text{Cs}]^+$), 725 (1.4, $[\text{M}+\text{Cs}]^+$), 615 (1.6, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 593 (5.4, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 576 (1.1), 551 (3.4, $[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$), 535 (1.1, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}]^+$), 503 (0.8), 456 (0.7), 432 (0.7, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-\text{AcOH}-\text{CH}_3\text{CO}]^+$), 420 (0.7), 389 (1.8, $[\text{M}+\text{H}-\text{AlloH}-\text{AcOH}-2\text{CH}_3\text{CO}]^+$), 330 (100, $[\text{E}]^+$).

FIB-MS: (3.5 keV, Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 330$ (66, $[\text{E}]^+$), 210 (38), 168 (100), 150 (90), 138 (37), 126 (71), 108 (91), 97 (41).

$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_{15}$ (592.6) Ber. C 48.65 H 6.12
Gef. C 48.70 H 6.17

5.5 Phosphorylierungsreaktionen

5.5.1 Herstellung von 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlor-phosphit (73)

Verbindung 73 wurde nach *Schneiderwind-Stöcklein und Ugi* hergestellt¹⁰²⁾.

MS: $m/z(\%) = 261 (0.3, [M-CH_3]^+), 241 (0.5, [M-Cl]^+), 240 (0.4, [M-HCl]^+), 205 (1.4, [M-HCl-Cl]^+), 159 (100), 123 (90, [159-HCl]^+), 101 (39, [PCl_2]^+), 87 (43, [123-HCl]^+), 77 (59, [C_3H_6Cl]^+), 63 (16, [C_2H_4Cl]^+), 43 (47, [C_3H_7]^+).$

Die Verbindung 73 zeigt ein korrektes Isotopen-Pattern.

$C_4H_6Cl_5OP$ (278.3) Gef. 261 ($[M-CH_3]^+$, MS)

5.5.2 Herstellung von Bis(trimethylsilyl)peroxid (75)

Verbindung 75 wurde nach *Cookson, Davies und Fazal* hergestellt¹¹⁷⁾.

Sdp. und spektroskopische Daten stimmen mit Literaturangaben überein.

5.5.3 Phosphorylierung von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranose (76)

Umsetzung mit Neopentylalkohol

1,2,4-Triazol (118.1 mg, 1.71 mmol) wurde in 1.0 ml absol. THF/Pyridin 4:1 gelöst. Die Lösung wurde auf 0°C abgekühlt und mit 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlorphosphit (73, 111.2 mg, 80.0 μ l, 0.40 mmol) versetzt. Es fiel ein farbloser Niederschlag von Pyridinhydrochlorid aus. Nach 10min. Rühren bei 0°C wurde eine Lösung der Verbindung 76 (217.3 mg, 0.40 mmol) in 0.8 ml absol. THF zugetropft, und der Ansatz wurde 2 h bei 0°C gerührt. Dann wurde der Alkohol 79 (41.3 mg, 0.47 mmol), gelöst in 0.8 ml absol. THF, zugesetzt, und nach 15 min wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemp. erwärmt.

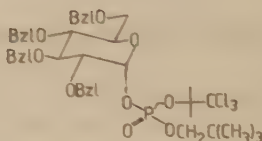
SC (12 g Kieselgel, Petrolether/Essigester/Triethylamin 8:1:0.4) ergab 344.4 mg des verunreinigten Phosphits 82.

Der so erhaltene Phosphorigsäuretriester 82 wurde in 3.0 ml absol. Benzol gelöst, und die Lösung wurde mit 2 Spatelspitzen AIBN versetzt. Durch die auf 70°C erwärmte Suspension wurde ein Benzol-gesättigter Sauerstoffstrom geleitet. Nach 5 h wurde bis zur Trockene eingengt.

ND-SC (B-Säule, ca. 4000 Böden, Petrolether/Essigester/Triethylamin 5:1:0.06) ergab 164.9 mg (48 %) 80a, 26.6 mg (8 %) 80b und 27.1 mg (8 %) Mischfraktionen.

2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-1-O-[(2-trichlormethyl-2-propyloxy)-(2,2-dimethylpropyloxy)-phosphoryl]- α -D-glucopyranose (80a)

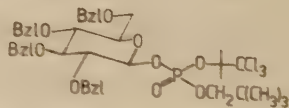
$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 0.84 und 0.89 (je ein s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1.86, 1.88 und 1.92 (je ein s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CCl}_3$); 3.32-4.20 (mk, Ringprotonen, CH_2CMe_3); 4.38-4.63 (mk, benzyl. H), 4.63-5.07 (mk, benzyl. H); 5.92 (dd, $J_{1,2}$ = 3.2 Hz, $|^3J_{\text{P,H}}|$ = 6.3 Hz, 1-H); 6.01 (dd, $J_{1,2}$ = 3.2 Hz, $|^3J_{\text{P,H}}|$ = 7.3 Hz, 1-H); 6.90-7.70 (aromat. H).



Das Integrationsverhältnis beträgt 9:6:8:3:5:1. Bei der Verbindung handelt es sich um die am Phosphoratom diastereomeren α -Phosphate. Das Verhältnis der Diastereomeren ergibt sich aus der Integration der Signale bei δ = 0.84 und δ = 0.89 zu 41:59.

2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-1-O-[(2-trichlormethyl-2-propyloxy)-(2,2-dimethylpropyloxy)-phosphoryl]- β -D-glucopyranose (80b)

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; δ = 0.90 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1.87 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CCl}_3$); 1.94 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CCl}_3$); 3.35-4.00 (mk, 8H, Ringprotonen, CH_2CMe_3); 4.40-5.08 (mk, 8H, benzyl. H); 5.20 (t, 1H, 1-H); 6.90-7.70 (mk, aromat. H). $|^3J_{\text{P,H}}| = J_{1,2} = 7.5$ Hz.



MS: Durch FAB-Technik konnte kein Massenspektrum erhalten werden.

Abspaltung der 2-Trichlormethyl-2-propylgruppe

Verbindung 80a (12.5 mg, 14.7 μ mol) wurde in 0.3 ml eines Gemisches aus Tributylphosphin/N,N-Dimethylformamid/Triethylamin 2:4:1 gelöst, und die Lösung wurde auf 80°C erwärmt. Nach 3.5stdg. Rühren wurde der Ansatz auf Raumtemp. abgekühlt und bis zur Trockene eingengt.

ND-SC (A-Säule, kurz, 1550 Böden, Essigester/Methanol 6:1) ergab 10.4 mg der Verbindung 84 (90 %, Triethylammoniumsalz). Die Substanz war dünnschichtchromatographisch (Essigester/Methanol 5:1) identisch mit einer auf unabhängigem Wege gewonnenen Vergleichssubstanz¹²⁹).

Umsetzung mit dem Alkohol 19

Aus 1,2,4-Triazol (39.0 mg, 0.564 mmol), dem Phosphitylierungsmittel 73 (33.4 mg, 0.024 mmol, 0.120 mmol) und dem Zucker 76 (65.6 mg, 0.121 mmol) wurde, wie zuvor beschrieben, die Zwischenstufe 78 hergestellt. Dann wurde der Alkohol 19 (52.0 mg, 0.110 mmol), gelöst in 0.4 ml absol. THF, zugesetzt, und nach 45 min. wurde der Ansatz auf Raumtemp. erwärmt.

SC (4.5 g Kieselgel, Petrolether/Essigester/Triethylamin 8:1:0.4) ergab 158.5 mg des verunreinigten Phosphits 83.

Das so gewonnene Phosphit 83 (136.0 mg, 6/7 der Gesamtmen-

ge) wurde mit Sauerstoff/AIBN oxidiert. Anschließend wurde die 2-Trichlormethyl-2-propylgruppe reduktiv mit Tri-n-butylphosphin gespalten.

ND-SC (A-Säule, lang, ca. 3200 Böden, Essigester/Methanol/Triethylamin 11:1:0.5) ergab 39.6 mg (28 %) 85.

Der Rest des Phosphits 83 (22.5 mg, 1/7 der Gesamtmenge) wurde in 0.5 ml absol. Dichlormethan gelöst. Nach Abkühlen der Lösung auf 0°C wurde diese mit 3.4 mg (4.0 µl, 18.8 µmol) Bis(trimethylsilyl)peroxid (75) versetzt, und der Ansatz wurde 4 h bei 0°C gerührt. Nach Erwärmen auf Raumtemp. wurde der Reaktionsansatz eingeeengt. Anschließend wurde die 2-Trichlormethyl-2-propylgruppe reduktiv mit Tri-n-butylphosphin gespalten.

ND-SC (A-Säule, kurz, ca. 1550 Böden, Essigester/Methanol/Triethylamin 14:1:0.5) ergab 6.2 mg (5 %) 85.

Aus den beiden Ansätzen wurde die Verbindung 85 in einem Verhältnis von etwa 6:1 isoliert, was dem Verhältnis des eingesetzten 83 zueinander entsprach.

(2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-1-O-([(R)-2-methyloxycarbonyl-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethoxy]-triethylammonium-oxidophosphoryl)-α-D-glucopyranose (85)

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃, COSY, ¹H-¹³C-Korrelation; s. Tabelle 7.

¹³C-NMR: 100.6 MHz, CDCl₃, DEPT; s. Tabelle 7.

FAB-MS: (Matrix: Triethanolamin); $m/z(\%) = 1174 (100, [M+H]^+), 1060 (17), 1096 (3, [M+H-C_6H_6]^+), 723 (9, [M+H-NEt_3-C_{25}H_{50}]^+), 651 (8, [GHI+NEt_3]^+), 641 (9), 591 (13), 573 (36, [GHI+Na]^+), 545 (31).$

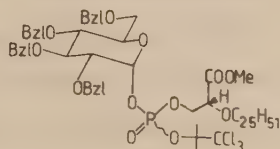
$C_{63}H_{93}O_{12}P^*C_6H_{15}N$ (1174.6) Gef. 1174 ($[M+H]^+$, FAB-MS)

In einem anderen Ansatz konnten aus 76 (93.0 mg, 0.172 mmol) nach Oxidation mit Sauerstoff/AIBN durch ND-SC (B-Säule, ca. 3300 Böden, Petrolether/Essigester/Triethylamin 5:1:0.06) die am Phosphor diastereomeren α -Phosphate 81 isoliert werden. Folgende Substanzen wurden erhalten: 19.5 mg (10 %) Verbindung a, 23.3 mg (11 %) Verbindung b und 3.4 mg (2 %) Mischfraktionen. Beide Stereoisomere ergaben nach Reduktion denselben Diester 85 (DC, Essigester/Methanol 5:1). Die beiden Verbindungen konnten nicht unzersetzt einer spektroskopischen Charakterisierung zugeführt werden. Durch die 1H -NMR-Spektren konnte in beiden Diastereomeren das Saccharid 76 (1-H) nachgewiesen werden. Zusätzlich wurde ein zweites Estersignal beobachtet. Aus der Lage dieser Signale konnte jedoch kein Strukturvorschlag für die daraus resultierende Verbindung abgeleitet werden.

2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-1-O-{[(R)-2-methyloxycarbonyl-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethyloxy]-(2-trichloromethyl-2-propyloxy)-phosphoryl}- α -D-glucopyranose (81)

Verbindung a*

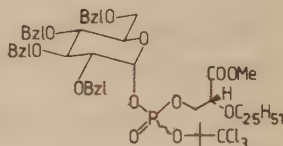
1H -NMR: 80 MHz, $CDCl_3$; $\delta = 1.92$
(s, $C(CH_3)_2CCl_3$); 3.68 (s,



COOMe); 3.82 (s, COOMe); 5.33 (d, $J_{1,2} = 2.5$ Hz, 1-H der Verbindung 76); 5.96 (dd, $J_{1,2} = 3.2$ Hz, $|^3J_{P,H}| = 7.0$ Hz, 1-H der Verbindung 81).

Verbindung b *

$^1\text{H-NMR}$: 80 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 1.87$ und 1.90 (s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CCl}_3$); 3.70 (s, COOMe); 3.81 (s, COOMe); 5.33 (d, $J_{1,2} = 2.4$ Hz, 1-H der Verbindung 76); 5.89 (dd, $J_{1,2} = 3.0$ Hz, $|^3J_{P,H}| = 6.3$ Hz, 1-H der Verbindung 81).



* Es werden nur charakteristische Signale angegeben.

5.5.4 Phosphorylierung des Disaccharids 63

Umsetzung mit 2-Trichlormethyl-2-propyl-dichlorphosphit (73)

Aus 1,2,4-Triazol (17.4 mg, 251.8 μmol) und dem Phosphitylierungsmittel 73 (16.7 mg, 12.0 μl , 59.9 μmol) wurde, wie oben beschrieben, das Ditriazolid 74 hergestellt. Eine Lösung des Disaccharids 63 (46.6 mg, 58.6 μmol) in 0.3 ml absol. THF wurde zu dem Reaktionsansatz getropft. Nach 4stdg. Rühren bei 0°C wurde der Alkohol 19 (27.8 mg, 59.0 μmol), gelöst in 0.12 ml absol. THF, zugesetzt. 2 h später wurde der Reaktionsansatz auf Raumtemp. erwärmt, im Argon-Strom eingeeengt und 1 h im Hochvakuum getrocknet. Sodann wurde das Phosphit 89 in 1 ml absol.

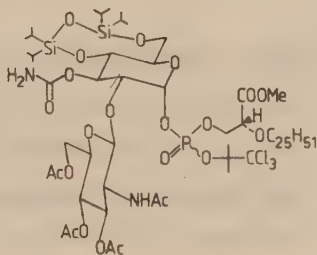
Dichlormethan aufgenommen, wobei dünnschichtchromatographisch (Petrolether/Essigester/Ethanol 3:1:1) bereits wieder das Disaccharid 63 nachgewiesen werden konnte. Die Lösung wurde auf 0°C abgekühlt und sodann mit 11.8 mg (14.0 µl, 65.9 µmol) Bis(trimethylsilyl)peroxid (75) versetzt. Der Ansatz wurde bei Raumtemp. 15.5 h oxidiert.

ND-SC (A-Säule, lang, ca. 2900 Böden, Petrolether/Essigester/Ethanol/Triethylamin 6:1:1:0.08) ergab 23.5 mg (27 %) 88.

Beim Ersatz von THF durch Dichlormethan konnten, unter sonst identischen Bedingungen, aus 39.1 mg (49.2 µmol) des Disaccharids 63 und 27.3 mg (58.0 µmol) des Alkohols 19 nach Oxidation und ND-SC 21.7 mg (30 %) 88 isoliert werden.

2-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-3-O-carbamoyl-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-1-O-[(R)-2-methyloxycarbonyl-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethylnonadecyloxy)-ethyloxy]-(2-trichlormethyl-2-propyloxy)-phosphoryl)-α-D-glucopyranose (88)

¹H-NMR: 80 MHz, CDCl₃; δ =
 0.75-0.95 (mk, 21H, CH₃-Gruppen in OCH₂C₂₄H₄₉); 0.95-1.50 (mk, 56H, CH- und CH₂-Gruppen in OCH₂C₂₄H₄₉, Prⁱ); 1.88-2.20 (mk, 18H, OAc, NHAc, OC(CH₃)₂CCl₃); 3.30-4.55 (mk, 18H, Ringprotonen, OCH₂CH(OCH₂C₂₄H₄₉)COOCH₃); 4.55-5.45 (mk, 5H, 1-H;E, 3-H;E, 4-H;E, -NH₂); 5.93 (dd, 1H, 1-H;F); 6.54 (d,



breit, 1H, NHAc).

$$|{}^3J_{P,H}| = 6.5 \text{ Hz}, J_{1,2} = 3.4 \text{ Hz}, {}^3J_{NH,2-H;E} = 7.6 \text{ Hz}.$$

Das Estersignal ist in zwei Singulets bei $\delta = 3.80$ und $\delta = 3.82$ aufgespalten. Dies ist ein Hinweis auf das Vorliegen der am Phosphor diastereomeren α -Phosphate. Eine Aussage über das Verhältnis ist nicht möglich.

Abspaltung der 2-Trichlormethyl-2-propylgruppe

Der Phosphorsäuretriester 88 (7.9 mg, 5.3 μmol), gelöst in 0.3 ml absol. Pyridin, wurde unter Argon mit 5.9 mg Zink-Kupfer-Paar und 12.0 μl 2,4-Pentandion versetzt, und der Ansatz wurde 6 h bei Raumtemp. gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch filtriert, und die Lösungsmittel wurden nach Zusatz von Toluol durch Destillation entfernt.

SC (10 g Kieselgel, Essigester/Methanol/Triethylamin 8:1:0.3) ergab 5.7 mg (76 %, Triethylammoniumsalz) 90.

2-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-8-D-glucopyranosyl)-3-O-carbamoyl-1-O-([(R)-2-methyloxycarbonyl-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethyloxy]-triethylammonium-oxidophosphoryl)-4,6-O-(1,1,3,3-tetraisopropyl-disiloxan-1,3-diyl)- α -D-glucopyranose (90)

${}^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, $[\text{D}_5]$ -Pyridin, COSY, ${}^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Korrelation; s. Tabelle 8.

^{13}C -NMR: 100.6 MHz, $[\text{D}_5]$ -Pyridin, DEPT; s. Tabelle 8.

IR: CHCl_3 ; 3550-3100 (NH), 2470 ($\text{H}-\text{N}^+\text{Et}_3$), 1740 (C=O),
1665 (Amid I), 1595 (Amid II), 1550 cm^{-1} .

FAB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 1429 (0.89, [\text{M}+\text{H}]^+)$,
 $1387 (0.33, [\text{M}+\text{H}-42]^+)$, $1371 (0.50, [\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_{10}]^+)$,
 $1343 (0.18, [\text{M}+\text{H}-2\cdot 43]^+)$, $1329 (0.28)$, $1267 (0.23)$,
 $1240 (0.28)$, $1188 (0.50)$; $1168 (0.50, [\text{M}+\text{H}-261]^+)$,
 $1139 (0.22)$, $1123 (0.28)$, $1102 (0.39)$, $1091 (0.44)$,
 $1078 (0.50, [\text{M}+\text{H}-\text{C}_{25}\text{H}_{51}]^+)$, $1062 (0.83,$
 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{25}\text{H}_{51}\text{O}]^+)$.

FAB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin); $m/z(\%) = 1429 (1.0, [\text{M}+\text{H}]^+)$,
 $1371 (0.5, [\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_{10}]^+)$, $1062 (1.0, [\text{M}+\text{H}-\text{C}_{25}\text{H}_{51}\text{O}]^+)$,
 $976 (1.5, [\text{M}+\text{H}-\text{NEt}_3-\text{C}_{25}\text{H}_{51}]^+)$, $917 (1, [\text{M}+\text{H}-\text{NEt}_3-$
 $\text{C}_{25}\text{H}_{51}\text{O}-43]^+)$, $716 (3.5, [\text{EF}-\text{NH}_2\text{COOH}]^+)$, $387 (18.5)$,
 $369 (21, [4\text{Gly}+\text{H}]^+ \text{ und/oder } [\text{C}_{25}\text{H}_{51}\text{OH}_2]^+)$, $357 (15.0)$,
 $343 (13.0)$, $330 (100, [\text{E}]^+)$, $315 (29.0)$.

$\text{C}_{62}\text{H}_{115}\text{N}_2\text{O}_{22}^{2+} \text{PSi}_2^+ \text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$ (1428.9) Gef. 1429 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, FAB-MS)

Darstellung des Phosphorsäurediesters 90 ohne Isolierung des Phosphorsäuretriesters 88

Verbindung 63 (50.9 mg, 64.0 μmol) und Alkohol 19 (41.3
mg, 87.7 μmol) wurden, wie zuvor beschrieben, zum Phosphat 88
umgesetzt. Das Substanzgemisch wurde ohne Aufarbeitung über

Kieselgel filtriert (10 g Kieselgel, Petrolether/Essigester/Ethanol/Triethylamin 3:1:1:0.5). Die vereinigten Fraktionen (83.6 mg) wurden 1 h im Hochvakuum getrocknet. Das gelbe Gemisch wurde anschließend mit Zink-Kupfer-Paar reduziert.

SC (55 g Kieselgel, Essigester/Methanol/Triethylamin 9:1:0.3) ergab 24.0 mg (27 % als Triethylammoniumsalz) 90.

5.6 Abspaltung der Schutzgruppen

5.6.1 Desilylierung des Phosphorsäurediesters 90

Der Diester 90 (41.0 mg, 28.7 μ mol) wurde in 1.0 ml absol. THF gelöst, und die Lösung wurde mit 80.0 μ l TBAF-Lösung (1 M in THF) versetzt. Nach 4stdg. Rühren bei Raumtemp. wurde die Reaktion durch Zusatz von 0.1 ml dest. Wasser abgebrochen, und das Reaktionsgemisch wurde lyophilisiert.

ND-SC (A-Säule, lang, ca. 2900 Böden, Chloroform/Methanol/Wasser 20:5:0.5) ergab 24.3 mg (72 %, Triethylammoniumsalz) 91.

2-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-3-O-carbamoyl-1-O-[(R)-2-methyloxycarbonyl-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)ethyloxy]-triethylammonium-oxidophosphoryl}- α -D-glucopyranose (91)

^{13}C -NMR: 100.6 MHz, $[\text{D}_4]$ -Methanol, DEPT; s. Tabelle 9.

FAB-MS: (Matrix: DMSO/Glycerin)m/z (%) = 1129 (100.0, $[\text{M}+2\text{Na}-\text{H}]^+$), 1107 (51.0, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 1087 (45.0,

[1129-CH₂CO]⁺), 1084 (7.0, [M+H]⁺), 1071 (18.0), 931 (9.5), 908 (11.0), 892 (8.5), 868 (11.0), 833 (9.0), 828 (7.5), 741 (7.0), 739 (7.0), 717 (7.5), 677 (9.0), 655 (4.0, [EFG+Na]⁺), 637 (6.0, [EFG+Na-H₂O]⁺), 596 (6.0), 595 (14.0, [EFG+Na-AcOH]⁺), 574 (6.0), 573 (17.5, [GHI+Na]⁺), 558 (12.0, [EF+Na]⁺).

C₅₀H₈₉N₂O₂₁P (1085.2) Gef. 1129 ([M+2Na-H]⁺, FAB-MS)

5.6.2 Esterhydrolyse

a) Eine Lösung der Verbindung 91 (2.1 mg, 1.9 µmol) in 0.2 ml absol. THF wurde auf 0°C abgekühlt. Dann wurden 50.0 µl LiOH-Lösung (0.29 M in Wasser) zugegeben. Nach 35min. Rühren bei 0°C wurde der Ansatz auf Raumtemp. erwärmt und mit Dowex-50 W-X2 (100-200 mesh, H⁺-Form) neutralisiert. Der Reaktionsverlauf wurde durch Dünnschichtchromatographie verfolgt. Aus den Dünnschichtchromatogrammen (Chloroform/Methanol/Wasser 10:6:1, zweimal entwickelt) ließen sich folgende Aussagen ableiten:

- 1) Die Reaktion war nach 5 Minuten noch nicht vollständig beendet.
- 2) Der Umsatz war nach 10 Minuten vollständig.
- 3) Ein zweites Produkt, unpolarer als Verbindung 15, das bereits nach 5 Minuten vorhanden war, nahm mengenmäßig mit der Zeit zu.

b) Eine Lösung der Verbindung 91 (11.7 mg, 10.8 µmol) in 2.0 ml absol. THF wurde auf 0°C abgekühlt. Dann wurden 0.5 ml LiOH-

Lösung (0.29 M in Wasser) zugegeben. Nach 8min. Rühren bei 0°C wurde mit Dowex-50 W-X2 (100-200 mesh, H⁺-Form) neutralisiert, auf Raumtemp. erwärmt, filtriert und lyophilisiert.

SC (Platzsäule, 5.5 g Kieselgel, Chloroform/Methanol/Wasser 18:7:0.9) ergab 9.7 mg eines Substanzgemisches, das die Verbindung 15 enthielt.

Aus verschiedenen Ansätzen wurden 29.8 mg des so hergestellten Substanzgemisches durch Chromatographie am Adsorberharz HP-20 und durch Reversed-Phase-Chromatographie weiter gereinigt. Insgesamt wurden 10.6 mg 15 isoliert.

2-O-(2-Acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-3-O-carbamoyl-1-O-([(R)-2-carboxy-2-(3,8,8,11,14,18-hexamethyl-nonadecyloxy)-ethyloxy]-hydroxyphosphoryl)-α-D-glucopyranose (15)

¹³C-NMR: 100.6 MHz, CDCl₃/CD₃OD/D₂O 18:11:2.7; s. Tabelle 1

FAB-MS: (Matrix: Triethanolamin); m/z(%) = 1011.5 (11, [M+3Na-2H]⁺), 1005.5 (9, [M+K+Na-H]⁺), 989.5 (44, [M+2Na-H]⁺), 983.5 (6, [M+K]⁺), 967.5 (62, [M+Na]⁺), 791 (3), 723 (3), 613 (4, [GHI+2K-H]⁺), 597 (10, [GHI+Na+K-H]⁺), 581 (29, [GHI+2Na-H]⁺), 575 (7, [GHI+K]⁺), 559 (57, [GHI+Na]⁺), 431 (100, [EF+Na-H]⁺), 409 (4, [EF]⁺), 370 (13, [431-H₂NCOOH]⁺), 327 (7).

C₄₃H₈₁N₂O₁₈P (945.1) Gef. 967.5 ([M+Na]⁺, FAB-MS)

5.7 Tabellen

Auf den nachfolgenden Seiten werden in tabellarischer Form die Spektren einiger Verbindungen aufgeführt:

- Tabelle 4: ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen 43, 58 und 59
- Tabelle 5: ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindungen 43, 58 und 59
- Tabelle 6: ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 64
- Tabelle 7: ^{13}C -NMR- und ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 85
- Tabelle 8: ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 90
- Tabelle 9: ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung 91
- Tabelle 10: Verzeichnis der Abkürzungen

Tabelle 4: ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen 43, 58 und 59

Zuordnung	<u>43</u>	<u>58</u>	<u>59</u>
Einheit E			
1-H		4.86, $J_{1,2} = 8.5 \text{ Hz}$	4.84, $J_{1,2} = 8.5 \text{ Hz}$
2-H		3.92, NH-Kopplung	3.97, NH-Kopplung
3-H		5.17, $J_{2,3} = 11.0 \text{ Hz}$	5.04
4-H		5.02,	5.10
		$J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5 \text{ Hz}$	
5-H		3.67,	3.61
6-H		4.12	4.01
6'-H		4.12	4.21, $ J_{AB} = 12.2 \text{ Hz}$, $J_{5,6'} = 4.0 \text{ Hz}$
NHAc		5.69, breit	6.31, $^3J = 8.3 \text{ Hz}$
NHCOCH ₃		1.93	1.90
OCOCH ₃		2.020, 2.022, 2.070	1.96, 1.99, 2.00
Einheit F			
1-H	4.97, $J_{1,2} = 4.0 \text{ Hz}$	4.98, $J_{1,2} = 4.0 \text{ Hz}$	4.90, $J_{1,2} = 4.1 \text{ Hz}$
2-H	3.46-3.59	3.46, $J_{2,3} = 10.0 \text{ Hz}$	3.51, OH-Kopplung
3-H	3.70-3.81	3.94, OH-Kopplung	3.72
4-H	3.70-3.81	3.70	3.71
		$J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5 \text{ Hz}$	
5-H	3.46-3.59	3.54	3.51
6-H	3.87, $ J_{AB} = 12.5 \text{ Hz}$, $J_{5,6} = 1.5 \text{ Hz}$	3.80, $ J_{AB} = 12.7 \text{ Hz}$, $J_{5,6} = 1.1 \text{ Hz}$	3.83, $ J_{AB} = 12.7 \text{ Hz}$, $J_{5,6} = 1.1 \text{ Hz}$
6'-H	4.10, $J_{5,6'} = 2.0 \text{ Hz}$	4.06, $J_{5,6'} = 1.8 \text{ Hz}$	4.08, $J_{5,6'} = 1.9 \text{ Hz}$
OH	2.37, 2.68	2.67, breit	2.45, $^3J = 9.8 \text{ Hz}$
Pr ⁱ	0.92-1.30	0.94-1.16	0.82-1.15
Allylgruppe			
1-H	4.02, $^3J = 6.0 \text{ Hz}$	3.98	4.01
1'-H	4.19, $ J_{AB} = 13.0 \text{ Hz}$, $^3J = 5.5 \text{ Hz}$	4.11	4.17, $ J_{AB} = 12.8 \text{ Hz}$, $^3J = 5.2 \text{ Hz}$, $ ^4J = 1.5 \text{ Hz}$
2-H	5.82-5.97	5.82-5.97	5.89-5.94
3-H ^{cis}	5.20, $^3J = 10.7 \text{ Hz}$	5.15, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$	5.22, $ J_{AB} = 2.5 \text{ Hz}$, $^3J = 10.2 \text{ Hz}$, $ ^4J =$ 1.0 Hz
3-H ^{trans}	5.28, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$	5.28, $^3J = 17.5 \text{ Hz}$	5.27, $^3J = 17.2 \text{ Hz}$, $ ^4J = 1.5 \text{ Hz}$

Tabelle 5: ^{13}C -NMR-Spektren der Verbindungen 43, 58 und 59

Zuordnung	<u>43</u>	<u>58</u>	<u>59</u>
Einheit E			
COCH_3		170.93, 170.82, 170.56, 169.31	170.87, 170.65, 170.53, 169.21
C-1		101.98	101.92
C-2		54.86	54.54
C-3		72.63	74.01
C-4		68.54	68.17
C-5		71.89	72.71
C-6		62.30	62.05
NHCOCH_3		23.25	23.12
OCOCH_3		20.66, 20.63, 20.52	20.69, 20.55, 20.53
Einheit F			
C-1	97.46	97.40	97.29
C-2	74.65 [*]	81.59	73.60
C-3	72.52 [*]	72.19	83.33
C-4	69.17 [*]	69.48	66.86
C-5	72.22 [*]	71.72	71.70
C-6	60.61	60.67	60.57
$\text{CH}(\text{CH}_3)_3$	17.32, 17.21, 17.17, 17.01	17.34, 17.22, 17.18, 17.08, 17.01	17.38, 17.30, 17.26, 17.14, 17.09, 17.01
$\text{CH}(\text{CH}_3)_3$	13.55, 13.21, 12.44	13.59, 13.18, 12.50, 12.44	13.18, 12.97, 12.80, 12.67, 12.11
Allylgruppe			
C-1	68.46	68.62	68.66
C-2	133.51	133.89	133.16
C-3	117.81	117.43	118.66

^{*} Diese Zuordnung ist möglicherweise zu vertauschen.

Tabelle 6: ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 64

Einheit E

1-H	5.58, $J_{1,2} = 8.4 \text{ Hz}$
2-H	4.10
3-H	6.12, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8 \text{ Hz}$
4-H	5.34, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.8 \text{ Hz}$
5-H	3.97, $J_{4,5} = 9.8 \text{ Hz}$, $J_{5,6} = 2.5 \text{ Hz}$, $J_{5,6} = 4.9 \text{ Hz}$
6-H	4.33
6'-H	4.47, $ J_{A,B} = 12.3 \text{ Hz}$
NHAc	9.16, $^3J = 8.1 \text{ Hz}$
NHCOCH ₃	1.987
OCOCH ₃	1.999, 2.002, 2.200

Einheit F

1-H	5.52, $J_{1,2} = 3.5 \text{ Hz}$
2-H	4.07
3-H	6.02, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.4 \text{ Hz}$
4-H	
5-H	4.24-4.45
6-H	
6'-H	
OH	5.09, breit, fällt mit H ₂ O zusammen
NH ₂	7.43

Allylgruppe

1-H	4.18, $ J_{AB} = 13.2 \text{ Hz}$, $^3J = 5.7 \text{ Hz}$, $ ^4J = 1.4 \text{ Hz}$
1'-H	4.32, $^3J = 5.0 \text{ Hz}$, $ ^4J = 1.5 \text{ Hz}$
2-H	5.85-5.97
3-H ^{cis}	5.01, $ J_{AB} = 3.4 \text{ Hz}$, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$, $ ^4J = 1.4 \text{ Hz}$
3-H ^{trans}	5.23, $^3J = 16.9 \text{ Hz}$, $ ^4J = 1.5 \text{ Hz}$

Tabelle 7: ^{13}C -NMR- und ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 85

Zuordnung ^{13}C -NMR		Zuordnung ^1H -NMR	
Einheit F			
C-1	93.11, $ ^2J_{\text{C,P}} = 5 \text{ Hz}$	1-H	5.83, $J_{1,2} = 3.3 \text{ Hz}$, $ ^3J_{\text{P,H}} = 7.5 \text{ Hz}$
C-2	79.67, $ ^3J_{\text{C,P}} = 7 \text{ Hz}$	2-H	3.56
C-3	81.45 [*]	3-H	3.90-4.25
C-4	71.22 [*]	4-H	—
C-5	77.21 ^v	5-H	3.62-3.75
C-6	68.43	CH ₂ -6	—
	75.47		4.92, $ J_{\text{AB}} = 10.0 \text{ Hz}$
	74.74		4.74
			4.82, $ J_{\text{AB}} = 12.5 \text{ Hz}$
			4.48
benzyl. C	73.37	benzyl. H	4.57, $ J_{\text{AB}} = 10.0 \text{ Hz}$
	72.03		4.42
			4.85, $ J_{\text{AB}} = 12.5 \text{ Hz}$
			4.61
aromat. C,	138.79-137.97		
4°		aromat. H	7.16-7.32
aromat. C,	128.32-127.31		
3°			
Einheit G			
HN ⁺ (CH ₂ CH ₃) ₃	45.25	HN ⁺ (CH ₂ CH ₃) ₃	2.91, 4H
HN ⁺ (CH ₂ CH ₃) ₃	8.42	HN ⁺ (CH ₂ CH ₃) ₃	1.19, 6H
Einheit H			
C-1	171.09		
C-2	78.84, $ ^3J_{\text{C,P}} = 7 \text{ Hz}$	2-H	3.90-4.25
C-3	65.68, $ ^2J_{\text{C,P}} = 5 \text{ Hz}$	3-H	
		3'-H	
COOCH ₃	51.79		
Einheit I			
C-1	69.46	1-H	3.42
		1'-H	3.55
		2-H	1.37
		2'-H	1.62
C-8	32.46		
prim., sek.		prim. H	0.73-0.89
und tert. C	19.45-42.01	sek. und	
		tert. H	0.97-1.72

* Diese Zuordnung ist möglicherweise zu vertauschen.

Tabelle 8: ^{13}C -NMR- und ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 90

Zuordnung ^{13}C -NMR		Zuordnung ^1H -NMR	
Einheit E			
COCH_3	171.19 [*] , 170.73 [*] , 170.47 [*] , 169.80 [*]		
C-1	101.79	1-H	5.54, $J_{1,2} = 8.3 \text{ Hz}$
C-2	55.33	2-H	4.28
C-3	73.39	3-H	5.95, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8 \text{ Hz}$
C-4	69.82	4-H	5.36, $J_{3,4} = J_{5,6} = 9.8 \text{ Hz}$
C-5	71.97	5-H	3.88
C-6	62.54	6-H	4.49
		6'-H	4.36
NHCOCH_3	23.51	NHCOCH_3	2.26
		NHAc	8.98, $^3J = 9.5 \text{ Hz}$
OCOCH_3	20.77, 20.62, 20.48	OCOCH_3	1.94, 2.02, 2.09
Einheit F			
OCONH_2	157.56	OCONH_2	7.46, breit
C-1	95.71, $ ^2J_{\text{C,P}} = 4.2 \text{ Hz}$	1-H	6.40, $J_{1,2} = 3.2 \text{ Hz}$, $ ^3J_{\text{P,H}} = 6.8 \text{ Hz}$
C-2	79.57, $ ^3J_{\text{C,P}} = 9.1 \text{ Hz}$	2-H	4.22, $ ^4J_{\text{P,H}} = 2.8 \text{ Hz}$
C-3	73.75	3-H	5.87, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.6 \text{ Hz}$
C-4	69.16	4-H	4.34
C-5	73.09	5-H	4.42
C-6	61.55	CH_2 -6	4.33
$\text{CH}(\text{CH}_3)_3$	13.00-14.00	$\text{CH}(\text{CH}_3)_3$	1.10-1.20
$\text{CH}(\text{CH}_3)_3$	17.40-18.10	$\text{CH}(\text{CH}_3)_3$	1.10-1.20
Einheit G			
$\text{HN}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$	45.73	$\text{HN}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$	3.03
$\text{HN}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$	8.81	$\text{HN}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$	1.27
Einheit H			
C-1	171.61 [*]		
C-2	79.81, $ ^2J_{\text{C,P}} = 6.7 \text{ Hz}$	2-H	4.52
C-3	66.31, $ ^2J_{\text{C,P}} = 8.3 \text{ Hz}$	3-H	4.72
		3'-H	4.63
COOCH_3	51.81	COOCH_3	3.74

Einheit I

C-1	69.68	1-H	3.80
		1'-H	3.66
		2-H	1.74
		2'-H	1.51
C-8	32.67		
prim., sek.		prim. H	0.84-0.99
und tert. C	19.10-42.30	sek., tert. H	1.01-1.86

Weitere Signale wurden bei $\delta = 69.59$ (sek. Kohlenstoffatom), 49.64 (prim. Kohlenstoffatom) und 46.64 (tert. Kohlenstoffatom) gefunden.

* Signale sind untereinander austauschbar

Tabelle 9: ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung 91

	<u>91</u>	Verunreinigung
Einheit E		
C-1	103.11	103.34 (19.6 %)
C-2	55.70	55.54 (19.2 %)
C-3	74.26 [*]	
C-4	70.58 [*]	
C-5	72.86 [*]	
C-6	63.42	
$\text{CO}-\text{CH}_3$	171.14 [#] , 171.79 [#] ,	171.27 (15.7 %)
	172.59 [#] , 173.00 [#]	171.92 (17.0 %)
$\text{CO}-\text{CH}_3$	19.94-23.13	

Einheit F		
$-\text{O}-\text{CO}-\text{NH}_2$	159.50	
C-1	96.23	
C-2	79.74 ⁺ , $^3J_{\text{C,P}} = 8.65 \text{ Hz}$	
C-3	75.63 [*]	75.37
C-4	70.25 [*]	69.73
C-5	73.85 [*]	73.94
C-6	62.18	

Einheit H		
C-1	173.59 [#]	
C-2	80.21 ⁺ , $^3J_{\text{C,P}} = 8.55 \text{ Hz}$	
C-3	66.92	
COOCH_3	52.73	

Einheit I		
C-1	70.28 [*]	70.40

Weitere intensive Signale bei $\delta = 70.61$, 59.48 und 59.45.

^{*}, [#], ⁺ Signale sind untereinander austauschbar.

Nahezu alle Signale sind doppelt. Wo es möglich war, wurde die Peakhöhe zur Berechnung der Menge an Verunreinigung herangezogen.

Tabelle 10: Verzeichnis der Abkürzungen

Abb.	Abbildung	Me	Methyl
absol.	absolut	MHz	Megahertz
Ac	Acetyl	min.	Minuten
AIBN	Azoisobuttersäurenitril	min.	minutig
Ala	Alanin	mk	Multiplettkomplex (NMR)
All	Allyl	MS	Massenspektroskopie
aromat.	aromatisch	ND-SC	Säulenchromatographie unter
B	geschützte Purin- oder Pyrimidin-Base		geringem Druck
Ber.	berechneter Wert	NMR	Kernmagnetische Resonanz
benzyl.	benzylisch	org.	organisch
Bz	Benzoyl	prim.	primär
Bzl	Benzyl	proz.	prozentig
ca.	circa	Pr ⁱ	2-Propyl
COSY	Correlated Spectroscopy (NMR)	q	Quartett (NMR)
d	Dublett (NMR), Tage	R	Alkylrest
m-DAP	1,5-Diamino-pimelinsäure	Raumtemp.	Raumtemperatur
dd	doppeltes Dublett (NMR)	s	Singulett (NMR)
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (NMR)	SC	Säulenchromatographie
dest.	destilliert	Schmp.	Schmelzpunkt
DMSO	Dimethylsulfoxid	Sdp.	Siedepunkt
E. coli	Escherichia coli	sek.	sekundär
Et	Ethyl	SIMS	Secondary Ion Mass Spectrometry
FAB	Fast Atom Bombardment (MS)	stdg.	stündig
FIB	Fast Ion Bombardment (MS)	Staph.	Staphylococcus
Gef.	gefundenen Wert	Strept.	Streptococcus
ges.	gesättigt	t	Triplett (NMR)
Glu	Glutaminsäure	TAI	Trichloracetylisocyanat
Gly	Glycerin	TBAF	Tetra-n-butylammoniumfluorid
h	Stunden	tert.	tertiär
Hz	Hertz	TIPSCI	1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetra- isopropylidisiloxan
IR	Infrarot-Spektroskopie	THF	Tetrahydrofuran
J	Kopplungskonstante	TMS	Trimethylsilyl
Lit.	Literaturstelle	p-TsOH	para-Toluolsulfonsäure
M	Molekulation	u. a.	unter anderem
m	Multiplet (NMR)	vgl.	vergleiche

6 Literaturverzeichnis

- 1) K. H. Wallhäusser, G. Neumann, P. Präve und A. Steigler,
Antimicrob. Agents Chemother. 1965, 734.
- 2) G. Huber in F. E. Hahn (Ed.),
Antibiotics, Vol. V/1, S. 135, Springer Verlag, Berlin,
1979.
- 3) J. Scherkenbeck,
Diplomarbeit, Ruhr-Universität, Bochum, 1985.
- 4) P. Welzel, A. Hiltmann, K. Hobert, J. Scherkenbeck,
W. Bankova, M. Kaiser, D. Müller, H. J. Veith,
G. Seibert, G. Huber und D. Böttger,
vorgestellt auf dem 4th European Carbohydrate Symposium
(Eurocarb IV), Darmstadt, 13.-17. Juli 1987.
- 5) Y. van Heijenoort, M. Leduc, H. Singer und J. van
Heijenoort,
J. Gen. Microbiol. 133, 667 (1987)
und dort zitierte Literatur.
- 6) P. Welzel, F.-J. Witteler, D. Müller und W. Riemer,
Angew. Chem. 93, 130 (1981).
- 7) P. Welzel, B. Wietfeld, F. Kunisch, T. Schubert,
K. Hobert, H. Duddeck, D. Müller, G. Huber, J. E. Maggio
und D. H. Williams,
Tetrahedron 39, 1583 (1983).
- 8) S. Takahashi, K. Serita, M. Arai, H. Seto, K. Furihata
und N. Otake,
Tetrahedron Lett. 24, 499 (1983).
- 9) E. v. Wasielewski, R. Muschawek und E. Schütze,
Antimicrob. Agents Chemother. 1965, 743.

- 10) W. Sambeth, G. Neesemann, F. Bauer und G. Dost,
Ausscheidungs- und Rückstandsuntersuchungen mit
Flavomycin, Flavomycin-Symposium, Rottach-Egern 1969,
S. 133.
- 11) F. Bauer und G. Dost,
Antimicrob. Agents Chemother. 1965, 749.
- 12) J. B. Ward,
Pharmac. Ther. 25, 327 (1984).
- 13) Y. van Heijenoort und J. van Heijenoort,
FEBS Lett. 110, 241 (1980).
Y. van Heijenoort, M. Derrien und J. van Heijenoort,
FEBS Lett. 89, 141 (1978).
- 14) Für eine detailliertere Beschreibung der Wirkungsweise
vgl. Lit.⁵⁾.
- 15) M. Leduc, C. Frehel und J. van Heijenoort,
J. Bacteriol. 161, 627 (1985).
M. Leduc, R. Kasra und J. van Heijenoort,
J. Bacteriol. 152, 26 (1982).
- 16) W. E. Brown, V. Seinerova, W. M. Chan, A. I. Laskin,
P. Linnett und J. L. Strominger,
Ann. N. Y. Acad. Sci. 235, 399 (1974).
- 17) S. Somma, W. Merati und F. Parenti,
Antimicrob. Agents Chemother. 1977, 396.
- 18) P. Welzel, F. Kunisch, F. Kruggel, H. Stein, A. Ponty,
und H. Duddeck,
Carbohydr. Res. 126, C1 (1984).

- 19) P. Welzel, F. Kunisch, F. Kruggel, H. Stein, J. Scherkenbeck, A. Hiltmann, H. Duddeck, D. Müller, J. E. Maggio, H.-W. Fehlhaber, G. Seibert, Y. van Heijenoort und J. van Heijenoort, *Tetrahedron* **43**, 585 (1987).
- 20) T. Schubert, K. Hobert und P. Welzel, *Tetrahedron* **39**, 2219 (1983).
- 21a) H. Paulsen, *Angew. Chem.* **94**, 184 (1982).
- b) *Chem. Soc. Rev.* **13**, 15 (1984).
- c) R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **98**, 213 (1986).
- 22) R. U. Lemieux, T. Takeda und B. Y. Chung, *ACS Symposia Ser.* **39**, 90 (1977).
- 23) T. Ogawa, H. Yamamoto, T. Nukada, T. Kitajima und M. Sugimoto, *Pure Appl. Chem.* **56**, 779 (1984) und dort zitierte Literatur.
- 24) M. Kloosterman, E. Kuyl-Yeheskiely und J. H. van Boom, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **104**, 291 (1985) und dort zitierte Literatur.
- 25) M. Kiso und L. Anderson, *Carbohydr. Res.* **136**, 309 (1985).
- 26) T. Ogawa, K. Beppu und S. Nakabayashi, *Carbohydr. Res.* **93**, C6 (1981).
- 27) H. Paulsen und M. Paal, *Carbohydr. Res.* **135**, 53 (1984).
- 28) G. Grundler und R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1826.

- 29) G. Grundler und R. R. Schmidt,
Carbohydr. Res. 135, 203 (1985).
- 30) P. Fügedi und P. J. Garegg,
Carbohydr. Res. 149, C9 (1986).
- 31) J. O. Osby, M. G. Martin und B. Ganem,
Tetrahedron Lett. 25, 2093 (1984).
- 32a) N. T. Thuong und U. Asseline,
Biochimie 67, 673 (1985).
- b) W. Pfeleiderer,
Kontakte (Merck) 1983 (2), 3.
- c) S. A. Narang,
Tetrahedron 39, 3 (1983).
- d) A. Rosenthal, D. Cech und Z. A. Sabarova,
Z. Chem. 23, 317 (1983).
- 33) J. L. Fourrey und D. L. Shire,
Tetrahedron Lett. 22, 729 (1981).
- 34) L. J. McBride und M. H. Caruthers,
Tetrahedron Lett. 24, 245 (1983)
und dort zitierte Literatur.
- 35a) W. Bannwarth und A. Trzeciak,
Helv. Chim. Acta 70, 175 (1987)
und dort zitierte Literatur.
- b) J. Nielsen, J. E. Marugg, J. H. van Boom, J. Honnes,
M. Taagaard und O. Dahl,
J. Chem. Res. (S) 1986, 26
und dort zitierte Literatur.
- 36) M. Fujii, H. Nagai, M. Sekine und T. Hata,
J. Am. Chem. Soc. 108, 3832 (1986).

- 37) P. J. Garegg, I. Lindh, T. Regberg, J. Stawinski,
R. Strömberg und C. Henrichson,
Tetrahedron Lett. 27, 4051, 4055 (1986).
B. C. Froehler, P. G. Ng und M. D. Matteucci,
Nucleic Acids Res. 14, 5399 (1986).
M. Sekine, H. Mori und T. Hata,
Tetrahedron Lett. 1979, 1145.
vgl. auch
R. H. Hall, A. Todd und R. F. Webb,
J. Chem. Soc. 1957, 3291.
- 38) Neuere Beispiele siehe u. a.
- a) Teichonsäure:
J. J. Oltvoort, M. Kloosterman, C. A. A. van Boeckel und
J. H. Van Boom,
Carbohydr. Res. 130, 147 (1984)
und dort zitierte Literatur.
- b) Phosphoglycolipide:
C. A. A. van Boeckel und J. H. van Boom,
Tetrahedron 41, 4567 (1985)
und dort zitierte Literatur.
- c) Hüllantigene:
P. J. Garegg, R. Johansson, I. Lindh und B. Samuelsson,
Carbohydr. Res. 150, 285 (1986)
und dort zitierte Literatur.
- 39a) M. L. Wolf from und D. E. Pletcher,
J. Am. Chem. Soc. 63, 1050 (1941).
E. W. Putman,
Methods Carbohydr. Chem. 2, 261 (1963).

- b) R. S. Wright und H. G. Khorana,
J. Am. Chem. Soc. **80**, 1994 (1958).
- 40) M. Kiso, K. Nishihori, A. Hasegawa, H. Okumura und
I. Azuma,
Carbohydr. Res. **95**, C5 (1981).
- 41) L. L. Danilov, M. F. Troitzky, N. S. Utkina,
V. N. Shibaev und N. K. Kochetkov,
Carbohydr. Res. **87**, 141 (1980)
und dort zitierte Literatur.
- 42) M. A. Salam und E. J. Behrman,
Carbohydr. Res. **102**, 139 (1982)
und dort zitierte Literatur.
- 43) C. D. Warren, A. Herscovics und R. W. Jeanloz,
Carbohydr. Res. **61**, 181 (1978)
und dort zitierte Literatur.
- 44) A. Granata und A. S. Perlin,
Carbohydr. Res. **94**, 165 (1981).
- 45) K. Ikeda, T. Takahashi, H. Kondo und K. Achiwa
Chem. Pharm. Bull. **35**, 1311 (1987)
und dort zitierte Literatur.
- 46) R. R. Schmidt, M. Stumpp und J. Michel,
Tetrahedron Lett. **23**, 405 (1982).
R. R. Schmidt und M. Stumpp,
Liebigs Ann. Chem. **1984**, 680.
- 47) H. A. Nunez, J. V. O'Connor, P. R. Rosevear und
R. Barker,
Can. J. Chem. **59**, 2086 (1981)
und dort zitierte Literatur.

- 48) F. Ramirez und J. F. Marecek,
Synthesis 1985, 449.
- 49a) Om P. Srivastava und O. Hindsgaul,
Carbohydr. Res. 143, 77 (1985).
- b) Zur Darstellung von Verbindung 13 (Abb. 6) vgl. Lit.²⁰⁾.
- 50) T. Ogawa und A. Seta,
Carbohydr. Res. 110, C1 (1982).
- 51) P. Westerduin, G. H. Veeneman, J. E. Marugg, G. A. van
der Marel und J. H. van Boom,
Tetrahedron Lett. 27, 1211 (1986).
- 52) J. P. G. Hermans, E. de Vroom, C. J. J. Elie, G. A. van
der Marel und J. H. van Boom,
Recl. Trav. Chim. Pays-Bas 105, 510 (1986).
- 53) R. U. Lemieux und H. Driguez,
J. Am. Chem. Soc. 97, 4063 (1975).
- 54a) J. C. Catlin und F. Cramer,
J. Org. Chem. 38, 245 (1973).
- b) R. W. Adamiak, E. Biala, K. Grzeskowiak, R. Kierzek,
A. Kraszewski, W. T. Markiewicz, J. Stawinski und
M. Wiewiorowski,
Nucleic Acids Res. 4, 2321 (1977).
- c) J. Imai und P. F. Torrence,
J. Org. Chem. 46, 4015 (1981).
- 55a) J. Cunningham, R. Gigg und C. D. Warren,
Tetrahedron Lett. 1964, 1191.
- b) P. A. Gent und R. Gigg,
J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1974, 277.
- 56) E. J. Corey und J. W. Suggs,
J. Org. Chem. 38, 3224 (1973).

- 57a) D. Baudry, M. Ephritikhine und H. Felkin,
J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1978, 694.
- b) J. J. Oltvoort, C. A. A. van Boeckel, J. H. de Koning
und J. H. van Boom,
Synthesis 1981, 305.
- 58) M. A. Nashed und L. Anderson,
J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1982, 1274.
- 59) R. Gigg und C. D. Warren,
J. Chem. Soc. C 1968, 1903.
- 60) R. Boss und R. Scheffold,
Angew. Chem. 88, 578 (1976).
- 61a) T. Ogawa und S. Nakabayashi,
Carbohydr. Res. 93, C 1, (1981).
- b) T. Ogawa, S. Nakabayashi und T. Kitajima,
Carbohydr. Res. 114, 225 (1983).
- c) H. Paulsen und R. Lebuhn,
Carbohydr. Res. 130, 85 (1984).
- 62) K. Takeo und S. Tei,
Carbohydr. Res. 145, 307 (1986).
- 63) S. A. A. van Boeckel und J. H. van Boom,
Chem. Lett. 1981, 581.
- 64) C. H. M. Verdegaal, P. L. Jansse, J. F. M. de Rooij und
J. H. van Boom,
Tetrahedron Lett. 21, 1571 (1980).
- 65) J. J. Oltvoort, M. Kloosterman und J. H. van Boom,
Recl. Trav. Chim. Pays-Bas 102, 501 (1983).

- 66) D. J. M. van der Vleugel, J. W. Zwikker,
J. F. G. Vliegenthart, S. A. A. van Boeckel und
J. H. van Boom,
Carbohydr. Res. 105, 19 (1982).
- 67) W. T. Markiewicz,
J. Chem. Res. (S) 1979, 24.
- 68) W. T. Markiewicz,
Bull. Pol. Acad. Sci. 32, 463 (1984).
- 69) C. A. A. van Boeckel, P. Westerduin und J. H. van Boom,
Carbohydr. Res. 133, 219 (1984);
vergleiche dazu auch Lit.⁶⁶⁾.
- 70) M. L. Wolfrom und A. Thompson,
Methods Carbohydr. Chem. 2, 211 (1963).
- 71) G. Magnusson, G. Noori, J. Dahmen, T. Frejd und T. Lave,
Acta Chem. Scand. Ser. B 35, 213 (1981).
- 72a) G. Zemplén und E. Pacsu,
Chem. Ber. 62, 1613 (1929).
- b) A. Thompson, M. L. Wolfrom, und E. Pacsu,
Methods Carbohydr. Chem. 2, 215 (1963).
- 73) R. T. Lee und Y. C. Lee,
Carbohydr. Res. 37, 193 (1974).
- 74a) E. J. Corey, K. Narasaka und M. Shibasaki,
J. Am. Chem. Soc. 98, 6417 (1976).
- b) S. Hanessian und P. Lavallee,
Can. J. Chem. 55, 562 (1977).

- 75) R. U. Lemieux und R. M. Ratcliffe,
Can J. Chem. **57**, 1244 (1979).
R. U. Lemieux und R. M. Ratcliffe,
D. O. S., 2816340 (19. Oktober 1978);
Chem. Abstr. **90**, 87846k (1979).
- 76) H. Paulsen, J. P. Lorentzen und W. Kutschker,
Carbohydr. Res. **136**, 153 (1985).
- 77) N. V. Bovin, S. E. Zurabyan und A. Y. Khorlin,
Carbohydr. Res. **98**, 25 (1981).
- 78) H. Paulsen, A. Richter, V. Sinnwell und W. Stenzel,
Carbohydr. Res. **64**, 339 (1978).
- 79) D. Horton und M. L. Wolfrom,
J. Org. Chem. **27**, 1794 (1962).
- 80) D. Horton,
J. Org. Chem. **29**, 1776 (1964).
- 81) V. K. Srivastava,
Carbohydr. Res. **103**, 286 (1982).
- 82) K. L. Matta und O. P. Bahl,
Carbohydr. Res. **21**, 460 (1972).
- 83) N. Pravdic, T. D. Inch und H. G. Fletcher, Jr.,
J. Org. Chem. **32**, 1815 (1967).
- 84a) C. Augé, S. David und A. Veyrières,
Nouv. J. Chim. **3**, 491 (1979).
- b) J. Alais und A. Veyrières,
J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, **1981**, 377.
- 85) Z. Samek und M. Budesinsky,
Coll. Czech. Chem. Commun. **44**, 558 (1979).
- 86) N. Minami, S. S. Ko und Y. Kishi,
J. Am. Chem. Soc. **104**, 1109 (1982).

- 87) C. D. Warren und R. W. Jeanloz,
Carbohydr. Res. 53, 67 (1977).
- 88) F. Franke und R. D. Guthrie,
Aust. J. Chem. 31, 1285 (1978).
Aust. J. Chem. 30, 639 (1977).
G. H. Dodd, B. T. Golding und P. V. Ioannou,
J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1975, 249.
- 89) G. H. Dodd, B. T. Golding und P. V. Ioannou,
J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 1976, 2273.
- 90) C. A. A. van Boeckel und J. H. van Boom,
Tetrahedron Lett. 21, 3705 (1980).
- 91) W. T. Markiewicz, N. S. Padyukova, Z. Samek und J. Smrt,
Coll. Czech. Chem. Commun. 45, 1860 (1980).
- 92) A. B. Foster und W. G. Overend,
Quart. Rev. 11, 61 (1957).
- 93) C. A. A. van Boeckel, J. P. G. Hermans, P. Westerduin,
J. J. Oltvoort, G. A. van der Marel und J. H. van Boom,
Recl. Trav. Chim. Pays-Bas 102, 438 (1983).
- 94) R. L. Letsinger, J. L. Finnan, G. A. Heavner und
W. B. Lunsford,
J. Am. Chem. Soc. 97, 3278 (1975).
- 95) R. L. Letsinger und W. B. Lunsford,
J. Am. Chem. Soc. 98, 3655 (1976).
- 96a) S. Hamamoto und H. Takaku,
Chem. Lett. 1986, 1401.
- b) R. T. Pon,
Tetrahedron Lett. 28, 3643 (1987)
und dort zitierte Literatur.

- 97) R. L. Letsinger, E. P. Groody, N. Lander und T. Tanaka,
Tetrahedron **40**, 137 (1984).
- 98a) S. L. Beaucage,
Tetrahedron Lett. **25**, 375 (1984).
- b) G. Hering, R. Stöcklein-Schneiderwind, I. Ugi, T. Pathak,
N. Balgobin und J. Chattopadhyaya,
Nucleosides Nucleotides **4**, 169 (1985).
- 99) B. H. Dahl, J. Nielsen und O. Dahl,
Nucleic Acids Res. **15**, 1729 (1987).
- 100) M. D. Matteucci und M. H. Caruthers,
J. Am. Chem. Soc. **103**, 3185 (1981).
- 101a) Vgl. Lit. ^{35a,98a}).
- b) Vgl. Lit. ^{33,102}).
- 102) R. G. K. Schneiderwind-Stöcklein und I. Ugi,
Z. Naturforsch., Teil B, **39**, 968 (1984).
- 103a) Vitamin B₁₂ und Vitamin B₁₂-Modellverbindungen
R. Scheffold, G. Rytz und L. Walder in
Modern Synthetic Methods (R. Scheffold, Hrsg.), Vol. 3,
S. 355 ff, Verlag Salle und Sauerländer, Frankfurt/Main,
1983.
- R. Scheffold und E. Amble,
Angew. Chem. **92**, 643 (1980).
- b) Cobalt-(I)-phthalocyanin-Anion
H. A. Kellner, R. G. K. Schneiderwind, H. Eckert und
I. K. Ugi,
Angew. Chem. **93**, 581 (1981).
- 104) R. L. Letsinger, E. P. Groody und T. Tanaka,
J. Am. Chem. Soc. **104**, 6805 (1982).

- 105) C. Gosden und D. Fletcher,
J. Organomet. Chem. **186**, 401 (1980).
E. Kasafirek,
Tetrahedron Lett. **1972**, 2021.
M. F. Semmelhack und G. E. Heinsohn,
J. Am. Chem. Soc. **94**, 5139 (1972).
- 106) H. Eckert und I. Ugi,
Liebigs Ann. Chem. **1979**, 278.
- 107) Y. Hayakawa, M. Uchiyama und R. Noyori,
Tetrahedron Lett. **27**, 4191 (1986)
und dort zitierte Literatur.
- 108) T. Schubert,
Dissertation, Ruhr-Universität, Bochum, 1981.
- 109) Eine Auflistung findet man in Lit.^{35a,107)};
zu NO₂ vgl. auch
C. McGuigan,
J. Chem. Soc. Chem. Commun. **1986**, 533.
- 110) D. Brandes und A. Blaschette,
J. Organomet. Chem. **73**, 217 (1974).
- 111) W. G. Bentrude,
Tetrahedron Lett. **1965**, 3543.
- 112) R. Curci, R. Mello und L. Troisi,
Tetrahedron **42**, 877 (1986).
L. Wozniak, J. Kowalski und J. Chojnowski,
Tetrahedron Lett. **26**, 4965 (1985).
- 113) B. Bressel und A. Blaschette,
Z. Anorg. Allg. Chem. **377**, 182 (1970).
- 114) W. Hahn und L. Metzinger,
Macromol. Chem. **21**, 113 (1956).

- 115) E. Buncl und A. G. Davies,
J. Chem. Soc. **1958**, 1550.
- 116) A. A. Oswald und D. L. Guertin,
J. Org. Chem. **28**, 651 (1963).
- 117) P. G. Cookson, A. G. Davies und N. Fazal,
J. Organomet. Chem. **99**, C 31 (1975).
- 118) 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranose (76) wurde von
Frau A. Hiltmann nach Lit.¹¹⁶⁾ und 2,2,2-Trichlorethyl-
dichlorphosphit nach Lit.^{54c)} hergestellt.
- 119) C. P. J. Glaudemans und H. G. Fletcher, Jr.,
Methods Carbohydr. Chem. **6**, 373 (1972).
- 120) Zur Darstellung von 19 vgl.
P. Welzel, F.-J. Witteler und D. Müller,
Tetrahedron Lett. **1976**, 1665.
- 121) Diese Versuche wurden von Frau A. Hiltmann durchgeführt.
- 122) H. Hohgardt,
Dissertation, in Vorbereitung.
- 123) D. Kritchevsky und M. R. Kirk,
Arch. Biochem. Biophys. **35**, 346 (1952).
- 124) J. C. Dittmer und R. L. Lester,
J. Lipid Res. **5**, 126 (1964).
- 125) Beilstein, Handbuch der organischen Chemie 11, E II,
4. Aufl., Syst. Nr. 1521, S. 43f, Springer Verlag Berlin,
Heidelberg, Göttingen, 1950.
- 126) L. F. Fieser und M. Fieser in
Reagents for Organic Synthesis, Vol. 1, S. 70, John Wiley
and Sons, Inc., New York, London, Sidney, 1967.
- 127) *ibid.*, S. 1292.

- 128) C. F. Lane und G. W. Kramer,
Aldrichimica Acta **10**, 11 (1977).
- 129) K. Hohgardt,
Diplomarbeit, Ruhr-Universität, Bochum, 1984,

Lebenslauf

6. Februar 1959	geboren in Wuppertal-Elberfeld
31. Januar 1986	Eheschließung mit Heidemarie Stricker
4/1965 - 6/1968	Besuch der Gemeinschaftsssschule Gewerbeschulstraße in Wuppertal
8/1968 - 7/1974	Besuch der Städtischen Realschule Leimbacher Straße in Wuppertal
9/1974 - 6/1977	Besuch des Städtischen Gymnasiums Sedanstraße in Wuppertal
8/1977 - 8/1979	Wehrdienst, Entlassung als Unteroffizier d. Res.
10/1979	Beginn des Chemie-Studiums an der Ruhr-Universität Bochum
4/1981 und 10/1981	Diplom-Vorprüfungen
4/1983 und 10/1983	Diplom-Hauptprüfungen
11/1983 bis 8/1984	Anfertigung der Diplomarbeit unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. P. Welzel über "Untersuchungen zur Darstellung von Glucophospholipiden. Synthese struktur-analoger Bausteine des Moenomycin A"
11/1984 bis 4/1987	Anfertigung der vorliegenden Dissertation



